

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480004227.8

[51] Int. Cl.

A61K 31/551 (2006.01)

A61K 31/51 (2006.01)

[45] 授权公告日 2007 年 12 月 12 日

[11] 授权公告号 CN 100353946C

[22] 申请日 2004.1.13

[21] 申请号 200480004227.8

[30] 优先权

[32] 2003. 1. 13 [33] US [31] 60/440,077

[32] 2003. 8. 4 [33] US [31] 60/492,480

[86] 国际申请 PCT/US2004/000807 2004. 1. 13

[87] 国际公布 WO2004/062623 英 2004. 7. 29

[85] 进入国家阶段日期 2005. 8. 15

[73] 专利权人 戴诺吉药品有限公司

地址 美国马萨诸塞州

[72] 发明人 史蒂文·B·兰道

[56] 参考文献

US6475078 B2 2002.11.5

审查员 于保华

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

权利要求书 5 页 说明书 61 页 附图 10 页

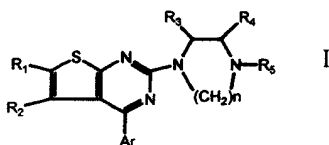
[54] 发明名称

治疗功能性肠病的方法

[57] 摘要

本发明涉及在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法。所述方法包括给需要治疗的患者施用治疗有效量的具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和再吸收抑制剂(NARI)活性的化合物。本发明进一步涉及在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法,包括给所述患者一起施用第一种量的 5-HT₃ 拮抗剂和第二种量的 NARI,其中所述第一种量和第二种量一起组成治疗有效量,或者每种都以治疗有效量施用。此外,本发明的方法包括单独施用 NARI。根据本发明的方法可以治疗的功能性肠病包括 IBS, 功能性腹胀, 功能性便秘和功能性腹泻。

1. 式 I 的化合物或其药学可接受的盐，在制备用于治疗功能性肠病的药物中的应用，其中，式 I 的化合物：



其中其中 R_1 和 R_2 独立地代表氢，卤素或 C_1 - C_6 烷基；或 R_1 和 R_2 与它们所相连的碳原子一起构成具有 5 到 6 个碳原子的环烷撑基；

R_3 和 R_4 独立地代表氢或 C_1 - C_6 烷基；

R_5 是氢， C_1 - C_6 烷基，



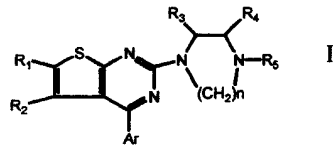
或 $-C(O)-NH-R_6$ ，

其中 m 是大约 1 到大约 3 的整数， X 是卤素， R_6 是 C_1 - C_6 烷基；并且

Ar 是取代或未取代的苯基，2-噻吩基或 3-噻吩基； n 是 2 或 3；

其中，所述药物以单位剂量形式存在，包括大约 0.001mg 到大约 1000mg 的式 I 化合物或其药学可接受的盐。

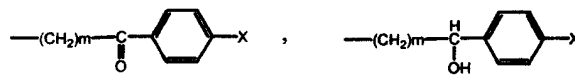
2. 式 I 的化合物或其药学可接受的盐，在制备用于减轻由于肠易激综合征 (IBS) 引起的疼痛或不适，和用于缓解其他至少一种选自排便频率异常、排便形式异常、排便异常、粘液便和肿胀或感觉到异常的扩张的 IBS 病症的药物中的应用，其中，式 I 的化合物：



其中 R_1 和 R_2 独立地代表氢，卤素或 C_1 - C_6 烷基；或 R_1 和 R_2 与它们所相连的碳原子一起构成具有 5 到 6 个碳原子的环烷撑基；

R_3 和 R_4 独立地代表氢或 C_1 - C_6 烷基；

R_5 是氢， C_1 - C_6 烷基，



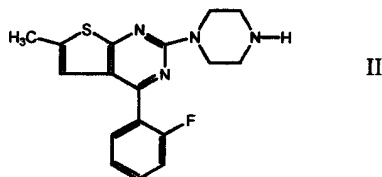
或 $-C(O)-NH-R_6$ ，

其中 m 是大约 1 到大约 3 的整数， X 是卤素， R_6 是 C_1 - C_6 烷基；并且

Ar 是取代或未取代的苯基，2-噻吩基或 3-噻吩基； n 是 2 或 3。

3. 权利要求 1 或 2 的应用，其中对于式 I 的化合物， R_1 是 C_1 - C_6 烷基， Ar 是取代的苯基。
4. 权利要求 3 的应用，其中所述取代的苯基被卤素取代。
5. 权利要求 1 或 2 的应用，其中对于式 I 的化合物， n 是 2， R_1 是 C_1 - C_6 烷基， Ar 是取代的苯基。
6. 权利要求 5 的应用，其中所述取代的苯基被卤素取代， R_1 是甲基。
7. 权利要求 1 或 2 的应用，其中对于式 I 的化合物， R_1 是 C_1 - C_6 烷基或卤素， Ar 是未取代的苯基。

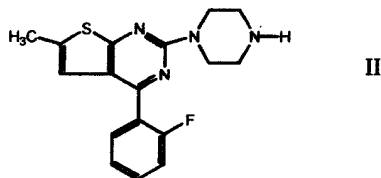
8. 权利要求 7 的应用，其中 R_2 是卤素或 C_1-C_6 烷基。
9. 权利要求 5 的应用，其中对于式 I 的化合物， n 是 2， R_1 是 C_1-C_6 烷基，Ar 是未取代的苯基。
10. 式 II 的化合物：



或其药学可接受的盐在制备用于治疗功能性肠病的药物中的应用；

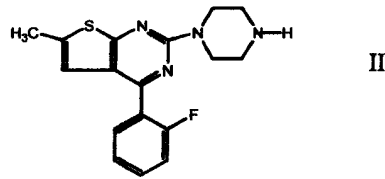
其中，所述药物以单位剂量形式存在，包括大约 0.001mg 到大约 1000mg 的式 II 化合物或其药学可接受的盐。

11. 式 II 的化合物：



或其药学可接受的盐在制备用于减轻由于肠易激综合征 (IBS) 引起的疼痛或不适，和用于缓解其他至少一种选自排便频率异常、排便形式异常、排便异常、粘液便和肿胀或感觉到异常的扩张的 IBS 病症的药物中的应用。

12. 权利要求 10 的应用，其中所述功能性肠病是肠易激综合症。
13. 权利要求 12 的应用，其中所述肠易激综合症是腹泻为主的肠易激综合症、便秘/腹泻交替的肠易激综合症或非便秘的肠易激综合症。

14. 式 II 的化合物:

或其药学可接收的盐在制备用于治疗腹泻为主的肠易激综合症的药物中的应用;

其中,所述药物以单位剂量形式存在,包括大约 0.001mg 到大约 1000mg 的式 II 化合物或其药学可接收的盐。

15. 权利要求 2 或权利要求 11 的应用,其中药物以单位剂量形式存在。

16. 权利要求 2 或权利要求 11 的应用,其中药物包括从大约 0.001 到大约 1000mg 的化合物或其药学上可接收的盐。

17. 权利要求 1、2、10、11 和 14 的任意一种应用,其中药物包括大约:

- (i) 大约 0.05mg 到大约 500mg;
 - (ii) 大约 0.03mg 到大约 300mg; 或
 - (iii) 大约 0.02mg 到大约 200mg
- 的化合物或其药学可接收的盐。

18. 权利要求 2 或权利要求 11 的应用,其中药物包括:

- (i) 大约 0.1mg 到大约 50mg; 或
 - (ii) 大约 0.5mg 到大约 10mg
- 的化合物或其药学上可接收的盐。

19. 权利要求 1 或 10 的应用，其中所述功能性肠病是肠易激综合症。
20. 权利要求 19 的应用，其中所述肠易激综合症是腹泻为主的肠易激综合症，便秘/腹泻交替的肠易激综合症或非便秘的肠易激综合症。
21. 权利要求 1、2、10、11 和 14 的任意一种应用，其中药物是：
- (a) 单一日剂量形式；
 - (b) 多次日剂量形式；
 - (c) 每隔一日给药；
 - (d) 每两日、三日、四日或五日给药；
 - (e) 连续服药的给药形式；
 - (f) 按需服药的给药形式。
22. 权利要求 1、2、10、11 和 14 的任意一种应用，其中药物是一种口服药物。
23. 权利要求 1、2、10、11 和 14 的任意一种应用，其中药物是片剂或胶囊剂的形式。
24. 权利要求 1 或 10 的应用，其中，功能性肠病具有相关的疼痛及不适。
25. 权利要求 24 的应用，其中相关疼痛是内脏疼痛。
26. 权利要求 1、2、10、11 和 14 的任意一种应用，其中药物对人类给药。

治疗功能性肠病的方法

相关申请

本申请要求 2003 年 8 月 4 日提交的美国临时申请 No.60/492,480 和 2003 年 1 月 13 日提交的美国临时申请 No.60/440,077 的权利。在此引入上述申请的全文作为参考。

发明背景

功能性肠病 (FBD) 是具有中部或下部胃肠道引发的症状的功能性胃肠疾病。FBD 包括, 肠易激综合症 (IBS), 功能性腹胀, 功能性便秘和功能性腹泻 (参见, 例如, Thompson et al., Gut, 45 (Suppl. II):II43-II47(1999))。在这些疾病中, 单是 IBS 每年就有达三百五十万例患者拜访医生, 是胃肠病中最常见的疾病, 占有患者的大约 25% (Camilleri and Choi, Aliment. Pharm. Ther., 11:3-15(1997))。总的来说, 估计全世界的成年人中有高达 20% 受到 IBS 影响的成年人, 在患有 IBS 的人中只有 10-50% 实际上就医治疗。女人明显比男人更经常受到影响。此外, 心理因素, 例如情绪压力或明显的心理疾病, 对 IBS 中起作用的生理学机制可能有调节和加剧作用。

由于 IBS 中缺少容易识别的结构上的或生物化学的异常现象, 医疗机构制定了统一的规定和标准, 称为 Rome II 标准, 来辅助诊断 IBS。因此 IBS 的诊断是一种排除行为, 是基于在任何给定的情况下观察到的症状。IBS 的 Rome II 标准包括在之前的

12个月中有至少12个星期中，不要求是连续的，具有腹部疼痛或不适，其具有以下三个特征中的两个：

- (1) 可通过排便减轻痛苦；和/或
- (2) 其发作伴随着排便频率的变化；和/或
- (3) 其发作伴随着排便形式（外观）的变化。

其它症状，例如排便频率异常，排便形式异常，排便异常，粘液便，和/或腹胀或感觉到异常的扩张，这些症状一起可得出IBS的诊断结果。

进一步，IBS患者会表现出内脏的超敏性，行为学研究表明这是IBS中最常见的异常现象。例如，可评价对于患者和对照其对于由气球诱导的乙状结肠的逐渐扩张的反应痛觉阈值。在同样的扩张体积下，患者与对照相比有更高的疼痛指数。这个发现在许多研究中都能够重现，通过引入恒压器，一种计算机化的扩张装置，可以使得扩张程序标准化。这里引入两个内脏超敏性的概念，痛觉过敏和触摸痛。更特别地，痛觉过敏指在较低的管腔体积产生正常内脏感觉的情况。对于触摸痛，通常在产生正常内在感觉的体积产生疼痛或不适（参见，例如，Mayer E. A. and Gebhart, G. F., Basic and Clinical Aspects of Chronic Abdominal Pain, Vol 9, 15th ed. Amsterdam: Elsevier, 1993: 3-28）。

同样地，IBS是一种功能性肠病，其中腹部疼痛或不适伴随着排便或肠习惯的变化。因此，IBS具有肠运动紊乱，内脏感觉失调，和中枢神经失调的症状。虽然IBS的症状具有生理学基础，但是还没有发现IBS的独特的生理学机制。在一些情况下，在健康个体中能偶尔引起腹部不适的同样的机制会产生IBS的症状。

因此 IBS 的症状是肠道的运动反应的量的差异的产物，增加了对刺激或自发性收缩的敏感性。

传统的 IBS 的治疗是基于患者症状的严重程度和性质，以及其中是否涉及任何生理学因素。IBS 的治疗可以包括下述一种或多种：改变生活方式，药物治疗和生理学治疗。但是，没有一般的可用于 IBS 的所有情况的治疗。

在特定的情况下，推荐不要进食会使 IBS 症状恶化的食物。但是这种类型的治疗只是在引起 IBS 的根本原因或主要原因与饮食有关的时候才有效。在 IBS 的治疗中可以用生理学治疗。但是，这种治疗不能普遍治愈 IBS 的症状，这是因为不是所有的 IBS 情况都是由生理学因素引起的。

药理学活性的试剂通常可用于治疗 IBS。抗腹泻的药，例如洛哌丁胺，苯乙哌啶，和磷酸可待因，可用于治疗腹泻为主的 IBS；止痉挛的试剂，例如抗胆碱能药和平滑肌弛缓剂，例如西托溴铵，匹维溴铵，octilium bromide，曲美布汀，和美贝维林，可用于治疗腹泻为主的 IBS 和腹部疼痛。虽然抗胆碱能药和平滑肌弛缓剂可以减轻一些疼痛，但是他们对于 IBS 伴随的其它症状的效果还不清楚。

三环类抗抑郁剂，例如阿密曲替林，丙咪嗪，和多虑平，常用于治疗 IBS。选用三环类物质治疗 IBS 是基于他们所具有的抗胆碱能和止痛效果，这与它们治疗精神病的作用无关。已有报道三环类抗抑郁剂的抗胆碱能和止痛效果在 24 到 48 个小时内发挥作用，三环类抗抑郁剂可治疗受疼痛为主的 IBS 和增加的肠频率困扰的患者（参见，Clouse, R. R., Dig. Dis. Sci., 39 : 2352-2363 (1994)）。

但是，用三环类抗抑郁剂治疗 IBS 所伴随的不希望的副作用是这类治疗的重要缺陷。例如，三环类抗抑郁剂的抗胆碱能性质可引起口干，便秘，视力障碍，尿潴留，体重增加，高血压和心脏副作用，例如心悸和心律不齐。

此外，许多患者不愿用通常用于治疗抑郁症的药物治疗 IBS。也就是说，虽然三环类抗抑郁剂因其抗胆碱能和止痛的特性可用于治疗 IBS，但是一般人（例如医学界以外的人）并不能正确认识这种特征，使用三环类抗抑郁剂仍然与耻辱联系在一起。

而且，新的抗抑郁剂，特别是选择性的血清胺再吸收抑制剂，例如氟西汀，舍曲林，和帕罗西汀并不比三环类抗抑郁剂更有效，虽然有证据表明这些化合物可能具有较小的副作用。

中枢神经系统（CNS）治疗受到关注，被视为是潜在的 IBS 治疗，这是因为 CNS 和肠壁内的神经网络之间具有一定关系，后者形成了肠神经系统（参见，例如，Wood et al., Gut, 45 (Suppl II): 1116-1116 (1999)）。使用 5-HT₃ 受体拮抗剂也可以治疗 IBS。5-HT₃ 受体是配体门控离子通道，能引发血清胺(5-羟色胺, 5-HT) 的去极化作用，这有助于神经递质的释放。在胃肠道中，5-HT₃ 受体位于突触后的肠神经元上和传入感觉纤维上。在将感觉信息从胃肠道末梢传输到脊髓的背神经后根节神经元中也有 5-HT₃ 受体。这些受体的拮抗可以减少内脏疼痛，延迟结肠传输，并且增加小肠吸收。

事实上，临床药理学研究表明在健康的志愿者中 5-HT₃ 受体拮抗剂减慢了整个肠传输时间，增加了结肠的柔性，减少了 IBS 患者对扩张的体积的感知，在具有腹泻症状的患者中延迟了通过结肠的传输。但是，结肠手术造成的便秘和后遗症与急性缺血性结肠炎是使用 5-HT₃ 受体拮抗剂阿洛司琼治疗 IBS 中重要的不良

事件。例如，这种类型的并发症，其中一些是致命的，导致用于治疗 IBS 的 5-HT₃ 受体拮抗剂，阿洛司琼暂时退出美国市场。

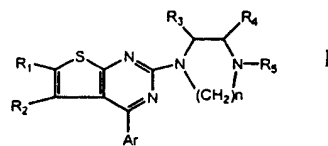
综上所述，对功能性肠病的治疗需要改进，特别是 IBS 的治疗。

发明简述

本发明涉及在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法。所述方法包括给需要治疗的患者施用治疗有效量的具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和去甲肾上腺素再吸收抑制剂 (NARI) 活性的化合物。功能性肠病选自 IBS，功能性腹胀，功能性便秘和功能性腹泻。

在特定的实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物是噻吩并[2,3-d]嘧啶衍生物例如美国专利序列号 4,695,568 中所述的，在此引入其全文作为参考。

在一个特定的实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物由结构式 I 表示：



其中 R₁ 和 R₂ 独立地代表氢，卤素或 C₁-C₆ 烷基；或 R₁ 和 R₂ 与它们所相连的碳原子一起构成具有 5 到 6 个碳原子的环烷撑基；R₃ 和 R₄ 独立地代表氢或 C₁-C₆ 烷基，R₅ 是氢，C₁-C₆ 烷基，

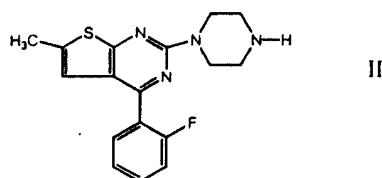


或-C(O)-NH-R6,

其中 m 是大约 1 到大约 3 的整数, X 是卤素, R6 是 C1-C6 烷基;

Ar 是取代或未取代的苯基, 2-噻吩基或 3-噻吩基; n 是 2 或 3; 或其药学可接收的盐。

在特定的实施方案中, 所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物由下述结构式表示:



或其药学可接收的盐。该化合物通常被称为 MCI-225 或 DDP-225。该结构式所示的结构的化学名称为: 4-(2-氟苯基)-6-甲基-2-(1-哌嗪基)噻吩并[2,3-d]嘧啶。

在一个特定的实施方案中, 功能性肠病是 IBS。在一个特定的实施方案中, IBS 是腹泻为主的 IBS。在另一个实施方案中, IBS 是便秘/腹泻交替的 IBS。在另一个实施方案中, IBS 是非便秘的 IBS。

本发明进一步涉及一种在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法, 包括给所述患者一起施用治疗有效量的 5-HT₃ 受体拮抗剂和治疗有效量的 NARI。所述功能性肠病选自 IBS, 功能性腹胀, 功能性便秘和功能性腹泻。

本发明进一步涉及一种在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法, 包括给所述患者一起施用第一种量的 5-HT₃ 受体拮抗

剂和第二种量的 NARI，其中所述第一种量和第二种量一起组成治疗有效量。所述功能性肠病选自 IBS，功能性腹胀，功能性便秘和功能性腹泻。

在特定的实施方案中，一起给药的方法可用于治疗 IBS。在一个特定的实施方案中，所述 IBS 是腹泻为主的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS 是便秘/腹泻交替的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS 是非便秘的 IBS。

此外，本发明涉及一种在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法，包括施用治疗有效量的 NARI。在这个实施方案中，所述 NARI 基本没有抗胆碱能的作用。所述功能性肠病选自 IBS，功能性腹胀，功能性便秘和功能性腹泻。

在一个特定的实施方案中，施用 NARI 可用于治疗 IBS。在一个特定的实施方案中，所述 IBS 是腹泻为主的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS 是便秘/腹泻交替的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS 是非便秘的 IBS。

本发明进一步涉及可用于治疗功能性肠病的药物组合物。所述药物组合物包括第一种量的 5-HT₃ 受体拮抗剂化合物和第二种量的 NARI 化合物。本发明的药物组合物任选地可包含药学可接收的载体。所述 5-HT₃ 受体拮抗剂和 NARI 在药物组合物中每种量都可以是治疗有效量。在另一个方面，所述第一种和第二种量可以一起组成治疗有效量。

所述药物组合物可用于治疗功能性肠病，例如选自 IBS，功能性腹胀，功能性便秘和功能性腹泻的功能性肠病。在一个特定的实施方案中，所述功能性肠病是 IBS。在一个特定的实施方案中，所述 IBS 是腹泻为主的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS

是便秘/腹泻交替的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS 是非便秘的 IBS。

本发明进一步涉及具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物在制备治疗功能性肠病的药物中的用途。此外，本发明还涉及含有第一种量的 5-HT₃ 受体拮抗剂化合物和第二种量的 NARI 化合物的药物组合物在制备治疗功能性肠病的药物中的用途。所述用于制备治疗功能性肠病的药物的药物组合物任选地可含有药学可接收的载体。所述 5-HT₃ 受体拮抗剂和 NARI 在药物组合物中每种量都可以是治疗有效量，或者所述第一种和第二种量可以一起组成治疗有效量。进一步，本发明涉及 NARI 在制备治疗功能性肠病的药物中的用途。

本发明的上述和其它目的，特征和优点可以从下述更具体的对本发明的优选实施方案的描述中明显看出。

附图简述

图 1 是未处理的（没有给予载体或药物）致敏的和未致敏的雄性大鼠以及用 MCI-225 处理的致敏的雄性大鼠的结肠直肠扩张的 10 分钟的时间内记录的内脏运动反应（腹部肌肉收缩的次数）相对于扩张压力的图。

图 2 是未处理的（没有给予载体或药物）致敏的和未致敏的雄性大鼠以及仅用载体处理的致敏的雄性大鼠的结肠直肠扩张的 10 分钟的时间内记录的内脏运动反应（腹部肌肉收缩的次数）相对于扩张压力的图。

图 3 是用 1 mg/kg, 5 mg/kg 或 10 mg/kg 的恩丹西酮 i.p. 或仅用载体处理的致敏的雄性大鼠的结肠直肠扩张的 10 分钟的时间

内记录的内脏运动反应（腹部肌肉收缩的次数）相对于扩张压力的图。

图 4 是用 3 mg/kg, 10 mg/kg 或 30 mg/kg 的尼索西汀 i.p. 或仅用载体处理的致敏的雄性大鼠的结肠直肠扩张的 10 分钟的时间内记录的内脏运动反应（腹部肌肉收缩的次数）相对于扩张压力的图。

图 5 是用 3 mg/kg, 10 mg/kg 或 30 mg/kg 的 MCI-225 i.p. 或仅用载体处理的致敏的雄性大鼠的结肠直肠扩张的 10 分钟的时间内记录的内脏运动反应（腹部肌肉收缩的次数）相对于扩张压力的图。

图 6 是缺水胁迫（WAS）模型的给定对照组中雄性大鼠每小时粪粒排出量的条形图。

图 7 是 WAS 模型中用 3 mg/kg, 10 mg/kg 或 30 mg/kg 的 MCI-225 或仅用载体处理的雄性大鼠每小时粪粒排出量的条形图。

图 8 是 WAS 模型中用 3 mg/kg, 10 mg/kg 或 30 mg/kg 的尼索西汀或仅用载体处理的雄性大鼠每小时粪粒排出量的条形图。

图 9 是 WAS 模型中用 1 mg/kg, 5 mg/kg 或 10 mg/kg 的恩丹西酮或仅用载体处理的雄性大鼠每小时粪粒排出量的条形图。

图 10 是 WAS 模型中用恩丹西酮（10 mg/kg）和尼索西汀（30 mg/kg）的组合处理的雄性大鼠每小时粪粒排出量的条形图。

图 11 是小肠传输 (SIT) 啮齿动物模型的指定对照组 (未处理的; 载体 (丙二醇)) 中的雄性大鼠的小肠传输百分数的条形图。

图 12 是应用于 SIT 啮齿动物模型的并用 3 mg/kg, 10 mg/kg 或 30 mg/kg 的 MCI-225 i.p. 或仅用载体处理的雄性大鼠的小肠传输百分数的条形图。

图 13 是应用于 SIT 啮齿动物模型的并用 3 mg/kg, 10 mg/kg 或 30 mg/kg 的尼索西汀 i.p. 或仅用载体处理的雄性大鼠的小肠传输百分数的条形图。

图 14 是应用于 SIT 啮齿动物模型的并用 1 mg/kg, 5 mg/kg 或 10 mg/kg 的恩丹西酮或仅用载体处理的雄性大鼠的小肠传输百分数的条形图。

图 15 是应用于 SIT 啮齿动物模型的并用尼索西汀 (10 mg/kg) 和恩丹西酮 (5 mg/kg) 的组合处理的雄性大鼠的小肠传输百分数的条形图。

发明详述

本发明涉及在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法。特别地, 本发明涉及在需要治疗的患者中治疗 IBS 的方法。

一元胺神经递质

一元胺神经递质例如去甲肾上腺素 (也称为降肾上腺素), 血清胺 (5-羟色胺, 5-HT) 和多巴胺都是公知的, 在许多类型的疾病, 例如抑郁症中都发现这些神经递质受到干扰。这些神经递质从神经元的末梢穿过被称为突触间隙的小间隙并与第二种神

神经元表面上的受体分子结合。这种结合导致细胞内发生变化，并引发或激活突触后神经元的反应或变化。失活的发生主要是由于神经递质又回到突触前神经元，这被称为再吸收。在中枢神经系统（CNS）和肠神经系统（ENS）中都发现有这种神经元。

去甲肾上腺素和去甲肾上腺素再吸收抑制剂：

这里所说的术语去甲肾上腺素再吸收抑制剂（NARI）是指一种能抑制去甲肾上腺素传递功能的试剂（例如一种分子，一种化合物）。例如，NARI可以抑制去甲肾上腺素传递物质的配体与所述传递物质结合和/或抑制传递（例如去甲肾上腺素的吸收或再吸收）。同样地，患者中去甲肾上腺素传递功能的抑制可以导致生理学活性的去甲肾上腺素浓度的增加。应当理解去甲肾上腺素激活的再吸收抑制剂和降肾上腺素再吸收抑制剂（NERI）与去甲肾上腺素再吸收抑制剂（NARI）的含义是相同的。

这里所说的，去甲肾上腺素传递物质指天然存在的去甲肾上腺素传递物质（例如哺乳动物去甲肾上腺素传递物质（例如人（智人）去甲肾上腺素传递物质，鼠（例如大鼠，小鼠）去甲肾上腺素传递物质））以及其氨基酸序列与相应的天然存在的去甲肾上腺素传递物质相同的蛋白质（例如重组蛋白）。该术语包括天然存在的变体，例如多态性或等位基因变体以及剪接变体。

在特定的实施方案中，所述NARI可以抑制配体（例如天然配体例如去甲肾上腺素，或者其它配体例如尼索西汀）与去甲肾上腺素传递物质的结合。在其它实施方案中，所述NARI可以与去甲肾上腺素传递物质结合。例如，在优选的实施方案中，所述NARI可以与去甲肾上腺素传递物质结合，因而可以抑制配体与所述传递物质的结合并抑制所述配体的传递。在另一个优选的实

施方案中，所述 NARI 可以与去甲肾上腺素传递物质结合，因而能够抑制传递。

化合物的 NARI 活性可以用适当的检测方法来测定。更特别地，要测定去甲肾上腺素再吸收的抑制常数 (K_i)，可以使用能监测去甲肾上腺素 (NA) 再吸收的抑制的检测方法。例如，可以在适合于脑组织或其适当的部分，例如，鼠脑组织的神经突触部分 (用常用的方法收集并分离) 的再吸收的条件下培育降放射性去甲肾上腺素，例如 $[3H]NA$ 和感兴趣的检测化合物，测定所述组织或部分吸收的 $[3H]NA$ 的量 (例如通过液体闪烁光谱测定法)。用非线性回归分析计算 IC_{50} 值。然后用 Cheng-Prusoff 公式根据 IC_{50} 值计算抑制常数， K_i 值：

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + ([L]/K_d)}$$

其中 $[L]$ = 检测中使用的游离放射性配体的浓度， K_d = 放射性配体的平衡解离常数。为了确定非特异性吸收，可以用同样的检测方法，但是在没有检测化合物的条件下在 $4^\circ C$ 培育 (即在不适合于吸收的条件下)。

在优选的实施方案中，NARI 活性用上述的放射性配体吸收检测方法测定，详细步骤根据 Eguchi et al., *Arzneim.-Forschung/DrugRes.*, 47 (12) : 1337-47 (1997) 所述。

特别地，将鼠去头，迅速分离皮质，下丘脑，海马趾和纹状体组织。将这些组织加入 10 倍体积的冰冷却的 0.32 mol/L 的蔗糖匀浆 (用具有 Teflon 杵的 Potter 匀浆器)。在 $1000 \times g$ 离心 10 分钟，在 $11500 \times g$ 离心 20 分钟，用 pH 7.4 的 Krebs-Ringer 磷酸盐缓冲液 (124 mmol/L NaCl , 5 mmol/L KCl , $20 \text{ mmol/L Na}_2\text{HPO}_4$, $1.2 \text{ mmol/L KH}_2\text{PO}_4$, $1.3 \text{ mmol/L MgSO}_4$, 0.75 mmol/L

CaCl₂, 10 mmol/L 葡萄糖) 悬浮得到 P2 级分。用皮质和下丘脑的突触体进行[3H]NA 吸收检测。

检测管中含有体积为 0.2 mL 的放射性标记的去甲肾上腺素, [3H]NA, 体积为 0.1 mL 的 5 倍或更高浓度的化合物, 以及上述的体积为 0.5 mL 的氧化缓冲液。在 37°C 预培育 5 分钟以后, 加入体积为 0.2 mL 的突触体级分开始吸收。培育混合物中[3H]NA 的终浓度是 0.25 mol/L。5 分钟后用带有细胞收集器的 Whatman GF/B 玻璃纤维过滤器真空过滤终止反应。过滤器用 4mL 盐水洗涤三次并置于含有 10mL Atomlight 的闪烁管中 (Du Pont/NEN Research 的产品)。用液体闪烁光谱测定法检测放射活性。为了测定非特异性吸收, 在 4°C 不加入检测化合物进行培育。通过非线性回归分析计算 IC₅₀ 值。然后用 Cheng-Prusoff 公式根据 IC₅₀ 值计算抑制常数, K_i 值。

适用于本发明的 NARI 化合物的 NARI 活性的 K_i 值为大约 500 nmol/L 或更低, 例如大约 250 nmol/L 或更低, 例如, 大约 100 nmol/L 或更低。优选 NARI 活性的 K_i 值为大约 100 nmol/L 或更低。应当理解特定化合物的 K_i 的实际值可能随测定时所使用的不同检测条件 (例如放射性配体和组织来源) 而不同。同样地, 优选 NARI 活性的测定基本上是依据 Eguchi et al., *Arzneim.-Forschung/Drug Res.*, 47 (12) : 1337-47 (1997) 的放射性配体结合检测方法, 其具体如上所述。

此外, 要具有足够的 NARI 活性, 优选所述 NARI 化合物具有一种或多种选自下组的特征:

a) 基本不具有抗胆碱能作用;

b) 与血清胺再吸收的抑制相比对去甲肾上腺素再吸收具有选择性抑制作用；以及

c) 与多巴胺再吸收的抑制相比对去甲肾上腺素再吸收具有选择性抑制作用。

与血清胺或多巴胺再吸收的抑制相比对去甲肾上腺素再吸收的选择性抑制作用可以通过比较各个再吸收抑制作用的 K_i 值来确定。血清胺和多巴胺再吸收的抑制常数可用如上所述测定去甲肾上腺素的方法来测定，但是要使用适合于检测所述活性的放射性配体和组织（例如对血清胺使用 $[3H]5-HT$ ，下丘脑或皮质组织，对多巴胺（DA）使用 $[3H]DA$ 和纹状体组织）。

测定血清胺再吸收抑制和多巴胺再吸收抑制的优选方法如 Eguchi et al., *Arzneim.-Forschung/Drug Res.*, 47 (12) : 1337-47 (1997)所述。特别地，将鼠去头，迅速分离皮质，下丘脑，海马趾和纹状体组织。将这些组织加入 10 倍体积的冰冷却的 0.32 mol/L 的蔗糖匀浆（用具有 Teflon 杵的 Potter 匀浆器）。在 1000 x g 离心 10 分钟，在 11500 x g 离心 20 分钟，用 pH 7.4 的 Krebs-Ringer 磷酸盐缓冲液（124 mmol/L NaCl, 5 mmol/L KCl, 20 mmol/L Na_2HPO_4 , 1.2 mmol/L KH_2PO_4 , 1.3 mmol/L $MgSO_4$, 0.75 mmol/L $CaCl_2$, 10 mmol/L 葡萄糖）悬浮得到 P2 级分。用皮质，下丘脑和海马趾的突触体进行 $[3H]5-HT$ 吸收检测，用纹状体突触体进行 $[3H]DA$ 吸收检测。

检测管中含有体积为 0.2 mL 的放射性标记的配体（即 $[3H]5-HT$ 或 $[3H]DA$ ），体积为 0.1 mL 的 5 倍或更高浓度的化合物，以及上述的体积为 0.5 mL 的氧化缓冲液。在 37°C 预培育 5 分钟以后，加入体积为 0.2 mL 的突触体级分开始吸收。纹状体培育混合物中 $[3H]DA$ 的终浓度是 0.4 mol/L。皮质，下丘脑和

海马趾突触体的培育混合物中 [3H]5-HT 的终浓度是 0.02 mol/L, 0.04 mol/L, 0.08 mol/L。5 分钟 ([3H]5-HT) 或 3 分钟 ([3H]DA) 后用带有细胞收集器的 Whatman GF/B 玻璃纤维过滤器真空过滤终止反应。过滤器用 4mL 盐水洗涤三次并置于含有 10mL Atomlight 的闪烁管 (Du Pont/NEN Research 的产品) 中。用液体闪烁光谱测定法检测放射活性。为了测定非特异性吸收, 在 4°C 不加入检测化合物进行培育。通过非线性回归分析计算 IC₅₀ 值。然后用 Cheng-Prusoff 公式根据 IC₅₀ 值计算抑制常数, K_i 值。

测定了去甲肾上腺素, 血清胺和/或多巴胺吸收的抑制的 K_i 值之后, 可以确定其活性比值。与血清胺再吸收和/或多巴胺再吸收的抑制相比, 对去甲肾上腺素再吸收的选择性抑制是指一种化合物的血清胺 (再) 吸收和/或多巴胺 (再) 吸收抑制的 K_i 值是去甲肾上腺素 (再) 吸收抑制的 K_i 值的 10 倍或更高倍。也就是说, 血清胺 (再) 吸收抑制的 K_i/去甲肾上腺素 (再) 吸收抑制的 K_i 是大约 10 或更高, 例如大约 15 或更高, 大约 20 或更高, 例如, 大约 30, 40, 50 或更高。同样地, 多巴胺 (再) 吸收抑制的 K_i/去甲肾上腺素 (再) 吸收抑制的 K_i 是大约 10 或更高, 例如大约 15 或更高, 大约 20 或更高, 例如, 大约 30, 40, 50 或更高。

优选用于比较的 K_i 值是根据 Eguchi et al. 的方法测定的, 其具体细节如上所述。最优选地, 用于进行比较以确定选择性抑制的 NARI 活性和多巴胺再吸收活性的抑制的 K_i 值是根据 Eguchi et al. 的方法测定的, 使用鼠下丘脑组织的突触体制备物。进一步, 最优选地, 用于进行比较以确定选择性抑制的 NARI 活性和多巴胺再吸收活性的抑制的 K_i 值是根据 Eguchi et al. 的方法测定的,

使用鼠下丘脑组织的突触体制备物进行去甲肾上腺素吸收的抑制，用鼠纹状体组织的突触体制备物进行多巴胺吸收的抑制。

在另一个实施方案中，NARI 基本没有抗胆碱能效果。这里所说的基本没有抗胆碱能效果是指一种化合物与蕈毒碱受体结合的 IC₅₀ 值为大约 1 μmol/L 或更高。与蕈毒碱受体结合的 IC₅₀ 值可以用适当的检测方法测定，例如能测定化合物的抑制适当的放射性配体与蕈毒碱受体的结合的能力。测定化合物与蕈毒碱受体的结合的 IC₅₀ 值的优选检测方法如 Eguchi et al., *Arzneim.-Forschung/Drug Res.*, 47 (12) : 1337-47 (1997)所述。

特别地，可以用从鼠大脑皮质分离出的组织进行蕈毒碱受体结合检测。可以使用任何（二苯羟乙酸-3-奎宁环酯），其终浓度为 0.2 nmol/L。以不同浓度加入检测化合物，将得到的混合物在 37°C 培育 60 分钟。用玻璃纤维过滤器进行快速真空过滤终止反应。用闪烁光谱测定法测定过滤器上的放射活性。非特异性结合用 100 μmol/L 阿托品测定。用非线性回归分析计算 IC₅₀ 值。

在特定的实施方案中，所述 NARI 化合物选自文拉法辛，度洛西汀，安非他酮，米那普仑，瑞波西汀，lefepramine，去甲丙咪嗪，去甲替林，托莫西汀，马普替林，羟丙替林，左丙替林，维洛沙嗪和阿托莫西汀。

在一个优选的实施方案中，所述 NARI 化合物选自瑞波西汀，lefepramine，去甲丙咪嗪，去甲替林，托莫西汀，马普替林，羟丙替林，左丙替林，维洛沙嗪和阿托莫西汀。

血清胺和 5-HT₃ 受体拮抗剂：

神经递质血清胺最早在 1948 年发现，随即成为科学研究的主题。血清胺，也称为 5-羟色胺 (5-HT)，在中心和外周作用于不连续的 5-HT 受体。目前已识别了十四种血清胺受体的亚型，可分为七个家族。5-HT₁ 到 5-HT₇。这些亚型具有序列同源性，在对特定配体的特异性上具有某些相似性。5-HT 受体的命名和分类的综述可见 Neuropharm., 33: 261-273 (1994) and Pharm. Rev., 46: 157-203 (1994)。

5-HT₃ 受体是配体门控离子通道，广泛分布在人胃肠道，以及其它中心和外周部位的的肠神经元上。已发现这些通道的活性以及所引起的神经细胞去极化会影响内脏疼痛，结肠传输，胃肠分泌的调控。5-HT₃ 受体的拮抗能影响肠的感觉和运动功能。

这里所说的 5-HT₃ 受体是指天然存在的 5-HT₃ 受体 (例如哺乳动物 5-HT₃ 受体 (例如人 (智人) 5-HT₃ 受体, 鼠 (例如大鼠, 小鼠) 5-HT₃ 受体)) 以及其氨基酸序列与相应的天然存在的 5-HT₃ 受体相同的蛋白质 (例如重组蛋白)。该术语包括天然存在的变体, 例如多态性或等位基因变体以及剪接变体。

这里所说的术语 5-HT₃ 受体拮抗剂指一种能抑制 5-HT₃ 受体功能的试剂 (例如一种分子, 一种化合物)。例如 5-HT₃ 受体拮抗剂能抑制 5-HT₃ 受体的配体与所述受体的结合和/或抑制 5-HT₃ 受体介导的反应 (例如, 减小 5-HT₃ 引起 Bezold-Jarisch 反射的能力)。

在特定的实施方案种, 5-HT₃ 受体拮抗剂能抑制配体 (例如天然配体, 例如血清胺 (5-HT₃), 或其它配体例如 GR65630) 与 5-HT₃ 受体的结合。在特定的实施方案中, 5-HT₃ 受体拮抗剂能与 5-HT₃ 受体结合。例如, 在优选的实施方案中, 所述 5-HT₃ 受体拮抗剂能与 5-HT₃ 受体结合, 从而能抑制配体与所述受体的

结合和 5-HT₃ 受体介导的对配体结合的反应。在另一个优选的实施方案中，5-HT₃ 受体拮抗剂能与 5-HT₃ 受体结合，从而能抑制 5-HT₃ 受体介导的反应。

5-HT₃ 受体拮抗剂可以用任何适当的方法鉴别并评价其活性，例如用能评价化合物抑制放射性配体与 5-HT₃ 受体结合的能力(参见，例如 Eguchi et al., *Arzneim.-Forschung/Drug Res.*, 47(12) : 1337-47 (1997)和 G. Kilpatrick et al., *Nature*, 330: 746-748 (1987)) 和/或评价它们对于猫或鼠中 5-HT₃ 诱导的 Bezold-Jarisch (B-J) 反射的影响(分别依据 Butler et al., *Br. J. Pharmacol.*, 94 : 397-412 (1988)和 Ito et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 280 (1) : 67-72 (1997) 所述的方法)的方法。

在优选的实施方案中，化合物的 5-HT₃ 受体拮抗剂活性可以根据 Eguchi et al., *Arzneim.-Forschung/Drug Res.*, 47 (12) : 1337-47 (1997)所述的方法来测定。特别地，可以用 N1E-115 小鼠的成神经细胞瘤细胞(美国典型培养物保藏中心(ATCC)保藏号 CRL-2263)进行 5-HT₃ 受体结合检测，将细胞置于 20 mmol/L HEPES 缓冲液(pH=7.4)中，其中含有 150 mmol/L NaCl, 0.35 mmol/L 放射性标记的配体([³H] GR65630)和 6 倍或更高浓度的检测化合物，在 25℃反应 60 分钟。用玻璃纤维过滤器进行真空过滤终止反应。用闪烁光谱测定法检测过滤器上的放射活性。非特异性结合用 1 μmol/L 的 MDL-7222(内-8-甲基-8-氮杂双环[3.2.1]八-3-基-3,5-二氯苯甲酸酯)测定。用非线性回归分析计算 IC₅₀ 值。亲和常数，K_i 值用 Cheng-Prusoff 公式根据 IC₅₀ 值计算。

适用于本发明的具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性的化合物对 5-HT₃ 受体的亲和力(K_i)不超过恩丹西酮对 5-HT₃ 受体 K_i 的 250 倍。这种相对于恩丹西酮的活性(针对 5-HT₃ 受体的检测试

剂的 K_i /针对 5-HT₃ 受体的恩丹西酮的 K_i) 可以通过在适当的条件下, 例如在主要使用不同的检测试剂的条件下用合适的检测方法检测感兴趣的化合物和恩丹西酮来测定。优选 5-HT₃ 受体拮抗剂活性的该相对活性不超过恩丹西酮的 200 倍, 例如不超过恩丹西酮的 150 倍, 例如不超过恩丹西酮的 100 倍, 例如不超过恩丹西酮的 50 倍。在一个特别优选的实施方案中, 所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性的化合物相对于恩丹西酮的活性不超过 10。

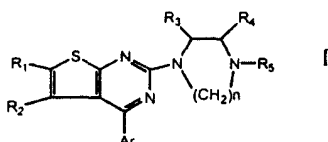
在特定的实施方案中, 5-HT₃ 受体拮抗剂选自 indisetron, YM-114((R)-2,3-二氢-1-[(4,5,6,7-四氢-1H-苯并咪唑-5-基)-羰基]-1H-吡啶), 格拉司琼, 他利克索, 阿扎司琼, 贝美司琼, 曲匹西龙, 雷莫司琼, 恩丹西酮, 帕洛诺司琼, 来立司琼, 阿洛司琼, N-3389, 扎考必利, 西兰司琼, E-3620([3(S)-内]-4-氨基-5-氯-N-(8-甲基-8-氮杂双环[3.2.1]-八-3-基-2[(1-甲基-2-丁炔基)氧]苯甲酰胺), 林托必利, KAE-393, 伊他司琼, 扎托司琼, 多拉司琼, (±)-扎考必利, (±)-伦扎必利, (-)-YM-060, DAU-6236, BIMU-8 和 GK-128 [2-[2-甲基咪唑-1-基)甲基]-苯并[f] 硫色素-1-酮一盐酸半水化合物]。

在优选的实施方案中, 5-HT₃ 受体拮抗剂可选自 indisetron, 格拉司琼, 阿扎司琼, 贝美司琼, 曲匹西龙, 雷莫司琼, 恩丹西酮, 帕洛诺司琼, 来立司琼, 阿洛司琼, 伊他司琼, 扎托司琼和多拉司琼。

本发明涉及一种在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法。所述方法包括给需要治疗的患者施用治疗有效量的具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物。所述功能性肠病可选自 IBS, 功能性腹胀, 功能性便秘和功能性腹泻。

在一个特定的实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物是噻吩并[2,3-d]嘧啶衍生物，例如美国专利序列号 4,695,568 中所述的，在此引入其全文作为参考。

在一个特异的实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物由式 I 表示：



其中 R₁ 和 R₂ 独立地代表氢，卤素或 C₁-C₆ 烷基；或 R₁ 和 R₂ 与它们所相连的碳原子一起构成具有 5 到 6 个碳原子的环烷撑基；R₃ 和 R₄ 独立地代表氢或 C₁-C₆ 烷基，R₅ 是氢，C₁-C₆ 烷基，



或 -C(O)-NH-R₆，

其中 m 是大约 1 到大约 3 的整数，X 是卤素，R₆ 是 C₁-C₆ 烷基；

Ar 是取代或未取代的苯基，2-噻吩基或 3-噻吩基；n 是 2 或 3；或其药学可接收的盐。

取代的苯基，2-噻吩基或 3-噻吩基指苯基，2-噻吩基或 3-噻吩基中至少一个可被取代的氢原子被除氢以外的基团（即取代基）取代。苯基，2-噻吩基或 3-噻吩基的环上可以有多个取代基。当具有多个取代基的时候，这些取代基可以是相同的或是不同的，取代可以是在环上的任何可以取代的部位。取代基可以是，例如，卤素原子（氟，氯，溴或碘）；烷基，例如 C₁-C₆ 烷基例

如甲基，乙基，丙基，丁基，戊基或己基；烷氧基，例如 C1-C6 烷氧基例如甲氧基，乙氧基，丙氧基，丁氧基；羟基；硝基；氨基，氰基；或烷基取代的氨基例如甲氨基，乙氨基，二甲氨基或二乙氨基。

C1-C6 烷基指具有一到六个碳原子的直链或枝链烷基。例如 C1-C6 烷基可以是直链的烷基例如甲基，乙基，丙基等。所述烷基也可以是枝链的例如异丙基或 t-丁基。

卤素指氟，氯，溴或碘。

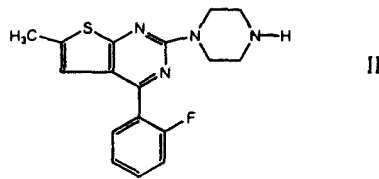
在一个特定的实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物由式 I 表示，其中 R₁ 是 C1-C6 烷基，Ar 是取代的苯基。在此实施方案中，优选苯基被卤素取代。

在特别优选的实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物由式 I 表示，其中 n 是 2，其中 R₁ 是 C1-C6 烷基，Ar 是取代的苯基。优选所述苯基被卤素取代，R₁ 的烷基是甲基。

在另一个实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物由式 I 表示，其中 R₁ 是 C1-C6 烷基或卤素，Ar 是未取代的苯基。进一步，当 R₁ 是烷基并且 Ar 是未取代的苯基的时候，R₂ 也是卤素或 C1-C6 烷基。

在一个特别优选的实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物由式 I 表示，其中 n 是 2，其中 R₁ 是 C1-C6 烷基，Ar 是未取代的苯基。在特定的实施方案中，其中 n 是 2，其中 R₁ 是 C1-C6 烷基，Ar 是未取代的苯基，R₂ 是卤素或 C1-C6 烷基。

在一个特别优选的实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物由式 II 表示：



或其药学可接受的盐。该化合物通常被称为 MCI-225 或 DDP-225。该结构式所示的结构的化学名称为：4-(2-氟苯基)-6-甲基-2-(1-哌嗪基)噻吩并[2,3-d]嘧啶。

在一个特定的实施方案中，功能性肠病是 IBS。在一个特定的实施方案中，IBS 是腹泻为主的 IBS。在另一个实施方案中，IBS 是便秘/腹泻交替的 IBS。在另一个实施方案中，IBS 是非便秘的 IBS。

在另一个实施方案中，所述方法进一步包括施用治疗有效量的另一种（即一种或多种）治疗剂。

具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物，例如由结构式 I 和 II 表示的化合物根据其表现出来的双重作用治疗模式，可用于治疗功能性肠病例如 IBS。也就是，调节 5-HT₃ 受体和去甲肾上腺素再吸收机制的功能的能力可以为进行治疗的患者提供一种更好的治疗方案。

在一个优选的实施方案中，具有 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性的化合物，例如结构式 I 和 II 的化合物具有选自下组的一种或多种特征：

a) 本不具有抗胆碱能作用；

b) 与血清胺再吸收的抑制相比对去甲肾上腺素再吸收具有选择性抑制作用；以及

c) 与多巴胺再吸收的抑制相比对去甲肾上腺素再吸收具有选择性抑制作用。

例如,特异的化合物 MCI-225 是一种选择性的 NARI 和 5-HT₃ 受体拮抗剂,基本不具有抗胆碱能作用。Eguchi et al., *Arzneim.-Forschung/Drug Res.*, 47 (12): 1337-47 (1997), 其中报道了 MCI-225 对不同的鼠脑组织中 [3H]一元胺神经递质去甲肾上腺素,血清胺和多巴胺的吸收的抑制常数。更特别地, MCI-225 可抑制鼠纹状体组织的突触体对 [3H]NA 和 [3H]5-HT 的吸收,抑制常数分别为 $K_i=35.0$ nmol/L 和 $K_i=491$ nmol/L。另外, MCI-225 可抑制鼠皮质组织突触体对 [3H]NA 和 [3H]5-HT 的吸收,抑制常数分别为 $K_i=0.696$ nmol/L 和 $K_i=1070$ nmol/L。根据报道, MCI-225 还可以抑制鼠海马趾组织突触体抑制血清胺的吸收,抑制常数为 $K_i=244$ nmol/L。进一步, MCI-225 对鼠纹状体组织突触体吸收 [3H]DA 的抑制常数为 $K_i=14,800$ 。MCI-225 没有显示出一元胺氧化酶-A (MAO-A) 和一元胺氧化酶-B (MAO-B) 的活性。

关于 5-HT₃ 受体拮抗剂活性, Eguchi et al. 报道了与其它检测的受体相比, MCI-225 显示出对 5-HT₃ 受体的高亲和力 (K_i 小于 100 nmol/L)。此外, MCI-225 对 5-HT₃ 受体的亲和力与已报道的用同样的放射性配体结合检测测定的恩丹西酮相似。简短来说, 用对于所感兴趣的受体适当的放射性配体和组织测定 MCI-225 对于放射性标记的配体结合的抑制。所述检测受体包括, $1, \alpha_2, 1, 2, 5-HT_1, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1c}, 5-HT_2, 5-HT_3, 5-HT_4, 5-HT_6, 5-HT_7, D_1, D_2, \text{蕈毒碱}, M_1, M_2, M_3, \text{烟碱}, H_1, H_2, GABA-A, GABA-B, BZP, \text{非选择性鸦片剂}, \text{鸦}$

片剂，鸦片剂，鸦片剂，CRF(促肾上腺皮质激素释放因子)和糖皮质激素。测定的 MCI-225，以及这些其它受体的 IC50 值，都大于 1 mol/L。

本发明进一步涉及一种在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法，包括给所述患者一起施用治疗有效量的 5-HT3 受体拮抗剂和治疗有效量的 NARI。所述功能性肠病可选自 IBS，功能性腹胀，功能性便秘和功能性腹泻。本发明进一步涉及一种在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法，包括给所述患者一起施用第一种量的 5-HT3 受体拮抗剂和第二种量的 NARI，其中所述第一种量和第二种量一起组成治疗有效量。所述功能性肠病选自 IBS，功能性腹胀，功能性便秘和功能性腹泻。

在特定的实施方案中，一起给药的方法可用于治疗 IBS。在一个特定的实施方案中，所述 IBS 是腹泻为主的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS 是便秘/腹泻交替的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS 是非便秘的 IBS。

在另一个实施方案中，所述一起给药的方法进一步包括施用治疗有效量的其他(即一种或多种)治疗剂。

在特定的一起给药的实施方案中，所述 5-HT3 受体拮抗剂可以选自 indisetron, YM-114((R)-2,3-二氢-1-[(4,5,6,7-四氢-1H-苯并咪唑-5-基-)羰基]-1H-吡啶)，格拉司琼，他利克索，阿扎司琼，贝美司琼，曲匹西龙，雷莫司琼，恩丹西酮，帕洛诺司琼，来立司琼，阿洛司琼，N-3389，扎考必利，西兰司琼，E-3620([3(S)-内]-4-氨基-5-氯-N-(8-甲基-8-氮杂双环[3.2.1]八-3-基-2[(1-甲基-2-丁炔基)氧]苯甲酰胺)，林托必利，KAE-393，伊他司琼，扎托司琼，多拉司琼，(±)-扎考必利，(±)-伦扎必利，(-)-YM-060，DAU-6236，

BIMU-8 和 GK-128 [2-[2-甲基咪唑-1-基)甲基]-苯并[f] 硫色素-1-酮一盐酸半水化合物]。

在优选的实施方案中，5-HT₃ 受体拮抗剂可选自 indisetron, 格拉司琼, 阿扎司琼, 贝美司琼, 曲匹西龙, 雷莫司琼, 恩丹西酮, 帕洛诺司琼, 来立司琼, 阿洛司琼, 伊他司琼, 扎托司琼和多拉司琼。

在特定的实施方案中,所述 NARI 化合物可以选自文拉法辛, 度洛西汀, 安非他酮, 米那普仑, 瑞波西汀, lefepramine, 去甲丙咪嗪, 去甲替林, 托莫西汀, 马普替林, 羟丙替林, 左丙替林, 维洛沙嗪和阿托莫西汀。

在一个优选的实施方案中,所述 NARI 化合物选自瑞波西汀, lefepramine, 去甲丙咪嗪, 去甲替林, 托莫西汀, 马普替林, 羟丙替林, 左丙替林, 维洛沙嗪和阿托莫西汀。

在优选的实施方案中,所述 NARI 化合物具有一种或多种选自下组的特征:

a) 基本不具有抗胆碱能作用;

b) 与血清胺再吸收的抑制相比对去甲肾上腺素再吸收具有选择性抑制作用; 以及

c) 与多巴胺再吸收的抑制相比对去甲肾上腺素再吸收具有选择性抑制作用。

此外,本发明涉及一种在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法,包括施用治疗有效量的 NARI。在这个实施方案中,所述 NARI 的特征是基本不具有抗胆碱能作用。

在另一个实施方案中，NARI 与血清胺再吸收的抑制相比对去甲肾上腺素再吸收具有选择性抑制作用和/或与多巴胺再吸收的抑制相比对去甲肾上腺素再吸收具有选择性抑制作用。所述功能性肠病选自 IBS，功能性腹胀，功能性便秘和功能性腹泻。

在特定的实施方案中，NARI 的施用可用于治疗 IBS。在一个特定的实施方案中，所述 IBS 是腹泻为主的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS 是便秘/腹泻交替的 IBS。在另一个实施方案中，所述 IBS 是非便秘的 IBS。

在另一个实施方案中，所述方法进一步包括施用治疗有效量的另一种（即一种或多种）治疗剂。

本发明进一步涉及可用于治疗功能性肠病的药物组合物。所述药物组合物包括第一种量的 5-HT₃ 受体拮抗剂化合物和第二种量的 NARI 化合物。本发明的药物组合物任选地可以含有药学可接收的载体。所述 5-HT₃ 受体拮抗剂和 NARI 每种在药物组合物中都可以是治疗有效量。在另一个方面，所述第一种量和第二种量一起构成治疗有效量。

在另一个实施方案中，所述药物组合物进一步包括其他（即一种或多种）治疗剂。

所述药物组合物可用于在需要治疗的患者中治疗功能性肠病。同样地，本发明涉及一种在需要治疗的患者中治疗功能性肠病的方法，包括给患者施用治疗有效量的本发明所述的药物组合物。所述功能性肠病可以选自 IBS，功能性腹胀，功能性便秘和功能性腹泻。在一个特定的实施方案中，所述功能性肠病是 IBS。在一个特定的实施方案中，所述 IBS 是腹泻为主的 IBS。在另一

个实施方案中，IBS 是便秘/腹泻交替的 IBS。在另一个实施方案中，IBS 是非便秘的 IBS。

适用于本发明所述的方法和药物组合物的其他治疗剂可以是，但不限于，例如抗痉挛剂，例如抗胆碱能药（例如双环胺，莨菪碱和西托铵）；平滑肌松弛剂（例如美贝维林）；钙离子阻断剂（例如维拉帕米，硝苯吡啶，octylonium bromide，薄荷油和匹维溴铵）；止泻药（例如洛哌丁胺和 diphenoxylate）；粪便湿胀剂（例如车前子，聚卡波非）；抗传入剂（例如奥曲肽和非多托秦）；蠕动促进剂，例如多巴胺拮抗剂（例如多潘立酮和甲氧普胺）或 5-HT₄ 拮抗剂（例如西沙必利）；精神药物，例如三环抗抑郁剂；或其任意组合。

功能性肠病

功能性肠病（FBD）是功能性胃肠失调，其具有由中下部胃肠道引起的症状。FBD 包括，肠易激综合症（IBS），功能性腹胀，功能性便秘和功能性腹泻（参见，例如 Thompson et al., Gut, 45 (Suppl II) : 1143-1147 (1999)）。

IBS

IBS 包括一组功能性肠病，其具有腹部不适或疼痛，并伴随着排便或肠习惯的改变，其具有排便紊乱的特征。IBS 的诊断标准是在之前的 12 个月中的至少 12 个星期中，不要求是连续的，具有腹部疼痛或不适，其具有以下三个特征中的两个：

可通过排便减轻痛苦；和/或

其发作伴随着排便频率变化；和/或

其发作伴随着排便形式（外观）变化。

附加有下述症状可以支持 IBS 的诊断：

排便频率异常（为研究的目的“异常”可定义为 $> 3/\text{天和} < 3/\text{周}$ ）；

排便形式异常（成块/硬或松散/水样便）；

排便异常（需要用力，迫切，或感觉不完全排空）；

粘液便；

肿胀或感觉到异常的扩张，

进一步，IBS 患者会表现出内脏的超敏性，行为学研究表明它是 IBS 中最常见的异常。

相信 IBS 伴随着的疼痛主要是由于这种内脏传入神经系统的超敏性导致的。例如当评价患者和对照对于由气球诱导的乙状结肠的逐渐扩张的痛觉阈值的时候。在同样的扩张体积下，患者与对照相比有更高的疼痛指数。这个发现在许多研究中都能够重现，通过引入恒压器，一种计算机化的膨胀装置，可以使得膨胀程序标准化。这里引入两个内脏超敏性的概念，痛觉过敏和触摸痛。更特别地，痛觉过敏指在较低的管腔体积产生正常内脏感觉的情况。对于触摸痛，通常在产生正常内在感觉的体积产生疼痛或不适（参见，例如，Mayer E. A. and Gebhart, G. F., Basic and Clinical Aspects of Chronic Abdominal Pain, Vol 9, 15th ed. Amsterdam: Elsevier, 1993: 3-28）。

同样地，IBS 是一种功能性肠病，其中腹部疼痛或不适伴随着排便或肠习惯的变化。因此，IBS 具有肠运动紊乱，内脏感觉失调，和中枢神经失调的症状。虽然 IBS 的症状具有生理学基础，但是还没有发现 IBS 独特的生理学机制。在一些情况下，在健康个体中能偶尔引起腹部不适的同样的机制会产生 IBS 的症状。因此 IBS 的症状是肠事件的运动反应的量的差异的产物，增加了对刺激或自发性收缩的敏感性。

功能性腹胀

功能性腹胀包括一组功能性肠病，其主要是感觉腹部充满或膨胀，并且没有足够的理由诊断为另一种功能性胃肠失调。

功能性腹胀的诊断标准是在之前的 12 个月中的至少 12 个星期中，不要求是连续的：

感觉腹部充满，膨胀或者具有可见的扩张；以及

没有足够的理由诊断为功能性消化不良，IBS，或其它功能性失调。

功能性便秘：

功能性便秘包括一组功能性失调，其是持续困难的，较少的，或看起来不完全的排便。

功能性便秘的诊断标准是在之前的 12 个月中的至少 12 个星期中，不要求是连续的，具有以下两个或多个特征：

(1) $> 1/4$ 的排便需要用力；

(2) > 1/4 的排便是块状的或硬的粪便;

(3) > 1/4 的排便感觉不完全排空;

(4) > 1/4 的排便感觉肛门直肠阻碍/阻塞;

(5) > 1/4 的排便需要手工动作帮助 (例如手指协助排便, 骨盆底支撑); 和/或

(6) < 3 次排便/周。

不存在松散的粪便, 并且没有足够的理由诊断为 IBS。

功能性腹泻

功能性腹泻是连续地或周期性地排出松散的 (糊状的) 或水样的分辨, 并且没有腹部疼痛。功能性腹泻的诊断标准是在之前的 12 个月中的至少 12 个星期中, 不要求是连续的:

液体 (糊状) 的或水样粪便;

(1) 3/4 的时间发生; 以及

(2) 没有腹部疼痛。

这里所说的患者是指动物例如哺乳动物, 包括但不限于, 灵长类动物 (例如人), 牛, 绵羊, 山羊, 马, 猪, 狗, 猫, 兔, 豚鼠, 大鼠, 小鼠或其它似牛的, 似绵羊的, 似马的, 似犬的, 似猫的, 啮齿类或鼠科动物。

这里所说的治疗有效量是指足以产生所希望的生物学反应的量。在本发明中, 所希望的生物学反应是减少 (完全或部分地)

至少一种要治疗的功能性肠病所伴随的症状。例如，当所述功能性肠病是 IBS 的时候，所希望的生物学反应是减少疼痛或不适。同任何治疗，特别是对多种症状的失调例如 IBS 的治疗一样，最好是能治疗患者所具有的多种失调相关的症状。同样地，当患者正在接受 IBS 的治疗的时候，优选能减少至少一种选自下组的 IBS 的其它症状：排便频率异常，排便形式异常，排便异常，粘液便，和肿胀或感觉到异常的扩张。

给药方式

用于本发明的化合物可以配制成口服，经皮，舌下，经颊，肠胃外，直肠，鼻内，支气管内或肺内给药形式。对于口服给药，所述化合物可以用传统方法与药学可接收的赋形剂例如粘合剂（例如，聚乙烯吡咯烷酮，羟丙基纤维素或羟丙基甲基纤维素）；填充剂（例如玉米淀粉，乳糖，微晶纤维素或磷酸钙）；润滑剂（例如硬脂酸镁，滑石粉，或硅石）；崩解剂（例如淀粉乙醇酸钠）；或湿润剂（例如月桂基硫酸钠）一起制成片剂或胶囊。如果需要，所述片剂可用适当的方法包被，包被材料例如 OPADRY®膜包被系统可从 Colorcon, West Point, PA 获得（例如，OPADRY® OY Type, OY-C Type, Organic Enteric OY-P Type, Aqueous Enteric OY-A Type, OY-PM Type 和 OPADRYX® White, 32K18400）。口服给药的液体制备物可以制成溶液，糖浆或悬液的形式。所述液体制备物可以用传统方法与药学可接收的添加剂例如悬浮剂（例如山梨醇糖浆，甲基纤维素或氢化食用脂肪）；乳化剂（例如卵磷脂或阿拉伯胶）；非水载体（例如杏仁油，油酯或乙醇）；和防腐剂（例如对羟基安息香酸或山梨酸甲酯或丙酯）。

对于经颊给药，用于本发明的方法的化合物可以用传统方法制成片剂或锭剂的形式。

对于肠胃外给药，用于本发明的方法的化合物可以制成注射或输注的形式，例如静脉内，肌肉内或皮下注射或输注，或者可以以单次剂量和/或连续输注的方式给药。还可以使用在油状或水状载体中的悬液，溶液或乳液，其中任选地含有其它配方试剂例如悬浮剂，稳定剂和/或分散剂。

对于直肠给药，用于本发明的方法的化合物可以制成栓剂的形式。

对于舌下给药，可以用传统方法制成片剂。

对于鼻内，支气管内或肺内给药，可以用传统的制剂形式。

进一步，用于本发明的方法的化合物可以配制成持续释放的制剂。例如，所述化合物可以与能为活性试剂化合物提供持续释放和/或控制释放性质的合适的聚合物或疏水物质一起配制。同样地，用于本发明的方法的化合物可以配制成微粒例如用于注射的形式，或者用于植入的薄片或圆盘的形式。

本发明的其它剂量形式包括美国专利序列号 6,340,475，美国专利序列号 6,488,962，美国专利序列号 6,451,808，美国专利序列号 6,340,475，美国专利序列号 5,972,389，美国专利序列号 5,582,837，和美国专利序列号 5,007,790 中所述的剂量形式。本发明的其它剂量形式还包括美国专利申请序列号 20030147952，美国专利申请序列号 20030104062，美国专利申请序列号 20030104053，美国专利申请序列号 20030044466，美国专利申请序列号 20030039688，和美国专利申请序列号 20020051820 中所述的剂量形式。本发明的其它剂量形式还包括 PCT 专利申请 WO 03/35041，PCT 专利申请 WO 03/35040，PCT 专利申请 WO 03/35029，PCT 专利申请 WO 03/35177，PCT 专利申请 WO

03/35039, PCT 专利申请 WO 02/96404, PCT 专利申请 WO 02/32416, PCT 专利申请 WO 01/97783, PCT 专利申请 WO 01/56544, PCT 专利申请 WO 01/32217, PCT 专利申请 WO 98/55107, PCT 专利申请 WO 98/11879, PCT 专利申请 WO 97/47285, PCT 专利申请 WO 93/18755, 和 PCT 专利申请 WO 90/11757 中所述的剂量形式。

在一个实施方案中, 本发明的剂量形式包括美国专利申请序列号 20030104053 中所述的用于口服给药的片剂。例如本发明的合适的剂量形式还可以是联合药物递送的立即释放和延长释放模式。本发明的剂量形式包括使其中同一种药物既用于立即释放部分也用于延长释放部分的剂量形式, 以及使其中一种药物配制成立即释放形式并且使不同于第一种药物的另一种药物配制成延长释放形式的剂量形式。本发明包括的剂量形式其中立即释放的药物最多只是少量溶于水, 即或者少量溶于水或者不溶于水, 而延长释放药物可以为任何溶解性。

更特别地, 在另一个实施方案中, 所述剂量形式的延长释放的部分可以是一种能在至少一个小时并且优选几个小时的一段时间内连续将其药物递送到消化系统的剂量形式, 所述药物可以如美国专利申请序列号 20030104053 中所述的配制。在所述实施方案中, 所述剂量形式的立即释放的部分可以是在单一的延长释放核的全部外表面上外加的或沉淀的包被物, 或者可以是具有两层或多层的片剂的某一层, 其它层中的一层是延长释放部分, 并且如美国专利申请序列号 20030104053 所述的配制。

在本发明的另一个实施方案中, 在控制释放片剂或者片剂的控制释放部分中的支持基质是一种当患者处于消化状态, 也称为餐后或“反馈”模式时, 其与胃液接触后能膨胀到大的足以促进在胃中保留的尺寸的物质。这是胃活动的两种模式中的一种, 因

其与众不同的胃和十二指肠的蠕动活性而不同。“反馈”模式是由食物消化诱导的，首先是上部胃肠（GI）道的蠕动方式发生快速而极深的变化。这种变化由胃收缩幅度的减小和幽门开口减小成部分关闭状态组成。结果是导致了一种筛选过程，其允许液体和小颗粒通过部分打开的幽门，而未消化的大于幽门的颗粒被阻挡，保留在胃中。这个过程导致胃将尺寸大于约 1cm 的颗粒保留大约 4 到 6 个小时。因此本发明的这些实施方案中的控制释放基质可选择一种能膨胀到大的足以被阻挡从而保留在胃中的尺寸的物质，从而引起药物在胃中而不是在肠中延长释放。可膨胀到能延长在胃中的保留时间的尺寸的口服剂量形式在美国专利序列号 6,448,962，美国专利序列号 6,340,475，美国专利序列号 5,007,790，美国专利序列号 5,582,837，美国专利序列号 5,972,389，PCT 专利申请 WO 98/55107，美国专利申请序列号 20010018707，美国专利申请序列号 20020051820，美国专利申请序列号 20030029688，美国专利申请序列号 20030044466，美国专利申请序列号 20030104062，美国专利申请序列号 20030147952，美国专利申请序列号 20030104053，和 PCT 专利申请 WO 96/26718 有描述。特别是，特异药物的胃保留剂量制剂也有描述，例如在 PCT 专利申请 WO 03/035040 中公开了加巴喷丁的胃保留剂量制剂。

一起给药

在本发明的方法的实施中，一起给药指施用第一种量的 5-HT₃ 受体拮抗剂化合物和第二种量的 NARI 化合物用于治疗功能性肠病，例如 IBS。一起给药包括以基本同时的方式施用第一种量和第二种量的一起给药的化合物，例如在一个药物组合物，例如具有第一种量和第二种量的混和比率的胶囊或片剂中，或者在多个分离的各自的胶囊或片剂中。此外，这种一起给药还包括

以任何次序顺序施用每种化合物。当一起给药是分开施用 NARI 和 5-HT₃ 受体拮抗剂的时候,所述化合物的给药应在时间上足够接近以具有所希望的治疗效果。

剂量

- 具有双重治疗作用模式(即 5-HT₃ 受体拮抗剂活性和 NARI 活性)的化合物; (b) 5-HT₃ 受体拮抗剂和 NARI 的组合; 或 (c) 单独的 NARI, 的治疗有效量或剂量取决于患者的年龄, 性别和体重, 患者目前的治疗情况和正在治疗的功能性肠病的性质。技术人员应当能够根据这些因素确定合适的剂量。

这里所说的连续剂量指所选的活性试剂的慢性给药。

这里所说的按需剂量, 也称为“临机”“prn”剂量, 和“按需”剂量或给药是指在所希望抑制功能性肠病的行为开始之前的一段时间给予治疗有效量的所述化合物。给药可以是正好在这种行为之前, 包括在这种行为之前大约 0 分钟, 大约 10 分钟, 大约 20 分钟, 大约 30 分钟, 大约 1 小时, 大约 2 小时, 大约 3 小时, 大约 4 小时, 大约 5 小时, 大约 6 小时, 大约 7 小时, 大约 8 小时, 大约 9 小时, 或大约 10 小时, 这取决于配方。在一个特定的实施方案中, 药物的给药或用量是按需的, 不是慢性药物给药。对于立即释放的剂型, 按需给药可以是正好在所希望抑制功能性肠病的行为开始之前, 但是通常是在这种行为之前大约 0 分钟到大约 10 小时, 优选在这种行为之前大约 0 分钟到大约 5 小时, 最优选是在这种行为之前大约 0 分钟到大约 3 小时。

例如, 所述 5-HT₃ 受体拮抗剂的适当剂量可以是每天大约 0.001 mg 到大约 500 mg, 例如大约 0.01 mg 到大约 100 mg, 例如大约 0.05 mg 到大约 50 mg, 例如每天大约 0.5 mg 到大约 25

mg。所述剂量可以是以单次剂量或多次剂量，例如每天 1 到 4 次或更多次剂量给药。当多次剂量给药的时候，每次剂量的量可以是相同的或是不同的。

例如，NARI 化合物的合适剂量可以是每天大约 0.001 mg 到大约 1000 mg，例如大约 0.05 mg 到大约 500 mg，例如大约 0.03mg 到大约 300 mg，例如每天大约 0.02 mg 到大约 200 mg。所述剂量可以是以单次剂量或多次剂量，例如每天 1 到 4 次或更多次剂量给药。当多次剂量给药的时候，每次剂量的量可以是相同的或是不同的。

例如，具有 5-HT₃ 受体拮抗剂和 NARI 活性的化合物的合适剂量可以是每天大约 0.001 mg 到大约 1000 mg，例如大约 0.05 mg 到大约 500 mg，例如大约 0.03mg 到大约 300 mg，例如每天大约 0.02 mg 到大约 200 mg。在一个特定的实施方案中，具有 5-HT₃ 受体拮抗剂和 NARI 活性的化合物的合适剂量可以是每天大约 0.1 mg 到大约 50 mg，例如每天大约 0.5 mg 到大约 10 mg，例如每天大约 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 或 10 mg。每天的剂量可以是以单次剂量或者多次剂量，例如每天 1 到 4 次或更多次剂量给药。当多次剂量给药的时候，每次剂量的量可以是相同的或是不同的。例如每天 1mg 的剂量可以是以两次 0.5mg 的剂量，两次之间间隔大约 12 小时给药。

应当理解每天给予的化合物的量可以是每天，每隔一天，每隔 2 天，每隔 3 天，每隔 4 天，每隔 5 天给药。例如，每隔一天给药时，每天 5mg 的剂量可以在星期一首次给药，在星期三给予第一个后续的每天 5mg，在星期五给予第二个后续的每天 5mg。

用于本发明的方法的化合物可以配制成单位剂量形式。术语“单位剂量形式”指实体不连续的单位，其适合于给经受治疗的

患者单次施用，每个单位含有预定量的经计算能产生所需的治疗效果的活性物质，任选与合适的药学载体结合。所述单位剂量形式可以是单次每天的剂量，或者多次每天剂量（例如每天大约 1 到 4 次或更多次）之一。当多次剂量给药的时候，每次剂量的量可以是相同的或是不同的。

对于具有 5-HT₃ 受体拮抗剂和 NARI 活性的化合物，每剂量可以含有大约 0.001 mg 到大约 1000 mg，例如大约 0.05 mg 到大约 500 mg，例如大约 0.03 mg 到大约 300 mg，例如大约 0.02 mg 到大约 200 mg 活性成分。

当所述治疗方法包括将 NARI 和 5-HT₃ 受体拮抗剂一起给药的时候，每个的剂量典型地可以含有大约 0.001 mg 到大约 1000 mg，例如大约 0.05 mg 到大约 500 mg，例如大约 0.03 mg 到大约 300 mg，例如大约 0.02 mg 到大约 200 mg 的 NARI 以及典型地可以含有大约 0.001 mg 到大约 500 mg，例如大约 0.01mg 到大约 100 mg，例如大约 0.05 mg 到大约 50 mg，例如大约 0.5 mg 到大约 25 mg 的 5-HT₃ 受体拮抗剂。

当所述治疗方法包括单独施用 NARI 的时候，每剂量典型地可以含有大约 0.001 mg 到大约 1000 mg，例如大约 0.05 mg 到大约 500 mg，例如大约 0.03 mg 到大约 300 mg，例如大约 0.02 mg 到大约 200 mg 活性成分。

本发明进一步包括一种治疗功能性肠病的试剂盒。所述试剂盒包括至少一种具有 5-HT₃ 受体拮抗剂和 NARI 活性的化合物（例如一个化合物）以及说明书，说明按照本发明的方法施用所述化合物。此外，所述试剂盒可以含有第一种 5-HT₃ 受体拮抗剂化合物和第二种 NARI 化合物以及说明书，说明按照本发明的方

法施用所述化合物。所述第一种化合物和第二种化合物可以是分离的剂量形式，或者可以组合在一种剂量形式中。

这里所说的术语药学可接收的盐指用药学可接收的没有毒性的酸包括无机酸，有机酸，溶剂化物，氢氧化物，或其络合物制备得到的给药化合物的盐。这种无机酸的实例是盐酸，氢溴酸，氢碘酸，硝酸，硫酸，和磷酸。合适的有机酸可以选自，例如，脂肪酸，芳香酸，羧酸和磺酸类的有机酸，例如蚁酸，乙酸，丙酸，琥珀酸，樟脑磺酸，柠檬酸，延胡索酸，葡糖酸，羟乙磺酸，乳酸，苹果酸，粘酸，酒石酸，对甲苯磺酸，乙醇酸，葡萄糖醛酸，马来酸，糠酸，谷氨酸，安息香酸，邻氨基苯酸，水杨酸，苯乙酸，扁桃酸，恩北酸（双羟萘酸），甲磺酸，乙磺酸，泛酸，苯磺酸（besylate），硬脂酸，磺胺酸，褐藻酸，半乳糖醛酸等。

应当理解可以用适当的方法通过筛选分子文库或分子集合鉴别 5-HT₃ 受体拮抗剂，NARI 以及具有 NARI 和 5-HT₃ 拮抗剂活性的单个化合物。所感兴趣化合物的另一个来源是由多个结构不同的分子组成的组合文库。组合文库可以用于鉴别前导化合物或优化先前识别的前导化合物。这种文库可以用组合化学的公知方法制备，并用适当的方法筛选。

本发明还涉及一种处理申请人根据医疗保险政策提出的对治疗功能性肠病的花费寻求返还的请求的方法，如本文所述。

在一个实施方案中，所述处理申请人根据医疗保险政策提出的对治疗功能性肠病的花费寻求返还的请求的方法，其中所述治疗包括给患者一起施用第一种量的 5-HT₃ 受体拮抗剂和第二种量的去甲肾上腺素再吸收抑制剂，其中所述第一种量和第二种量一起组成治疗有效量，包括：审查所述请求；确定所述治疗在所

述保险政策下是否是可返还的；以及处理所述请求，为所述花费提供部分或全部的返还。

在一个实施方案中，所述进行治疗的功能性肠病是肠易激综合症。

在一个特定的实施方案中，所述肠易激综合症是腹泻为主的肠易激综合症。

在另一个实施方案中，所述肠易激综合症是便秘/腹泻交替的肠易激综合症。

本发明还涉及一种处理申请人根据医疗保险政策提出的对治疗功能性肠病的花费寻求返还的请求的方法，其中所述治疗包括给患者一起施用治疗有效量的 5-HT₃ 受体拮抗剂和治疗有效量的去甲肾上腺素再吸收抑制剂，包括：审查所述请求；确定所述治疗在所述保险政策下是否是可返还的；以及处理所述请求，为所述花费提供部分或全部的返还。

在一个实施方案中，所述进行治疗的功能性肠病是肠易激综合症。

在一个特定的实施方案中，所述肠易激综合症是腹泻为主的肠易激综合症。

在另一个实施方案中，所述肠易激综合症是便秘/腹泻交替的肠易激综合症。

本发明还涉及一种处理申请人根据医疗保险政策提出的对治疗功能性肠病的花费寻求返还的请求的方法，其中所述治疗包括给患者施用治疗有效量的具有 5-HT₃ 受体拮抗剂和去甲肾上腺素

腺素再吸收抑制剂活性的化合物，包括：审查所述请求；确定所述治疗在所述保险政策下是否是可返还的；以及处理所述请求，为所述花费提供部分或全部的返还。

在一个特定的实施方案中，所述具有 5-HT₃ 受体拮抗剂和去甲肾上腺素再吸收抑制剂活性的化合物是 MCI-225。

在一个实施方案中，所述进行治疗的功能性肠病是肠易激综合症。

在一个特定的实施方案中，所述肠易激综合症是腹泻为主的肠易激综合症。

在另一个实施方案中，所述肠易激综合症是便秘/腹泻交替的肠易激综合症。

本发明还涉及一种处理申请人根据医疗保险政策提出的对治疗功能性肠病的花费寻求返还的请求的方法，其中所述治疗包括给患者施用治疗有效量的去甲肾上腺素再吸收抑制剂，其中所述去甲肾上腺素再吸收抑制剂基本没有抗胆碱能作用，包括：审查所述请求；确定所述治疗在所述保险政策下是否是可返还的；以及处理所述请求，为所述花费提供部分或全部的返还。

在一个实施方案中，所述进行治疗的功能性肠病是肠易激综合症。

在一个特定的实施方案中，所述肠易激综合症是腹泻为主的肠易激综合症。

在另一个实施方案中，所述肠易激综合症是便秘/腹泻交替的肠易激综合症。

药理学方法

扩展模型

可用多种检测方法评价对于直肠扩张的内脏运动和疼痛反应。参见,例如 Gunter et al., *Physiol. Behav.*, 69 (3): 379-82 (2000), Depoortere et al., *J. Pharmacol. and Exp. Ther.*, 294 (3): 983-990 (2000), Morteau et al., *Fund. Clin. Pharmacol.*, 8 (6) : 553-62 (1994), Gibson et al., *Gastroenterology (Suppl. 1)*, 120 (5) : A19-A20 (2001)和 Gschossmann et al., *Eur. J. Gastro. Hepat.*, 14 (10) : 1067-72 (2002), 在此引入其全文作为参考。

内脏疼痛

内脏疼痛能导致内脏反应,其表现为,例如腹肌的收缩。可以测量由大肠的扩张产生的机械疼痛刺激后发生的腹肌收缩次数以确定内脏对疼痛的敏感性。

可以在鼠中检测检测试剂对于扩张诱导的收缩的抑制作用。用通过引入气球造成的大肠的扩张作为刺激;测量腹肌的收缩作为反应。

例如,在输入稀乙酸溶液对大肠致敏后一个小时,引入乳胶气球然后使其经大约 5-10 分钟膨胀到 50-100 mbar。压力值也可以表达为 4°C 时 cm H₂O ($\text{mbar} \times 1.01973 = 4^\circ\text{C 时 cm H}_2\text{O}$)。在此时间内对腹肌的收缩进行计数。在检测试剂进行皮下给药后大约 20 分钟,重复测量。所述检测试剂的作用计算为收缩次数与对照(例如未激活的鼠)相比减少的百分数。

胃肠 (GI) 运动模型

胃肠运动的研究是基于整个动物中肠肌肉收缩相关的机械或电事件的体内记录, 或者在器官浴中在体外记录的分离胃肠肌肉制备物活性 (参见, 例如 Yaun et al., *Br. J. Pharmacol.*, 112 (4) : 1095-1100 (1994), Jin et al., *J. Pharm. Exp. Ther.*, 288 (1) : 93-97 (1999) 和 Venkova et al., *J. Pharm. Exp. Ther.*, 300 (3) : 1046-1052 (2002))。体内记录, 特别是在有意识地自由活动的动物中, 可以表征运动模式以及直接与 GI 道的运动功能相关的推进活性。比较而言, 体外研究可以提供有关能直接影响收缩活性的试剂的作用机制和作用位点的数据, 是区分对环形和/或纵向肠平滑肌层的作用的经典工具。

体内

结肠收缩

流动遥测运动记录提供了一种合适的研究在长时间内有意识的动物中肠运动的方法。可对结肠运动进行遥测记录以研究在有意识自由运动的动物的无制备的结肠中推进性收缩活动。尤卡坦小种猪提供了用于运动研究的极好的动物模型, 这是基于人和小种猪的胃肠道之间具有解剖学上的和功能上的相似性。为用于结肠运动的研究, 对幼猪进行外科手术使其形成永久的慢性盲肠炎。

在实验中, 所述动物饲养在控制条件的动物房中, 接受标准的饮食和无限量的水。对小种猪中近端结肠部分的结肠运动进行大约一周的遥测记录 (McRorie et al., *Dig Dis. Sci.* 43 : 957-963 (1998), Kuge et al., *Dig. Dis. Sci.* 47 : 2651-6 (2002))。每个记录

期得到的数据可用于确定平均作用大小以及推进性收缩的总次数，高速和低速推进性收缩的次数，长期和短期推进性收缩的次数，并用于估计每种类型的收缩占总收缩活性的百分率的相对份额。用于表征结肠收缩活动的总运动指数 (MI) 可以用下述等式计算：

$$MI = \frac{\text{收缩次数} / 24\text{小时} \times \text{压力峰下的面积}}{24\text{小时}}$$

结肠运动

用 TNBS 的乙醇溶液或盐水溶液 (对照) 对雌性大鼠进行结肠内给药。导管端部位于距肛门边缘 2 到 6cm 的位置 (n=6/组)。TNBS 给药后三天，对动物限制饮食过夜，在隔天早上用尿烷对其进行麻醉并用仪器进行生理学/药理学实验。

在颈的腹部一侧实施腹部切割，插入颈静脉导管，结扎固定，通过缝合封闭皮肤伤口。将形状像避孕套储藏头的端部为结肠内气球的导管和套管从肛门插入，使气球距肛门边缘大约为 4cm。通过三通阀与注射泵和压力传感器相连使得能够同时调节气球体积并记录压力。将金属线电极插入肛门外括约肌 (EAS) 和腹壁肌肉组织以记录肌动电流 (EMG)。通过这些方法，在对照和易激动物中都可以定量测量由腹部 EMG 激发引起的肛门内压力，结肠运动，结肠感觉阈值，以及 EAS 激发的频率和程度。

经过大约 1 小时的对照时间，等气球体积达到大约 0.025ml，确定结肠运动和相关的无害的内脏细胞反射测量的基准，连续三次进行逐步增加的或持续的气球扩张。在每一步体积扩张结束后，使气球放气 30 分钟以恢复并进行其它的结肠运动测量。测量 EMG 和结肠压力对气球扩张的反应并分析其对结肠直肠扩张

(CRD)的敏感性。以逐步增加剂量反应的方式给予药理学试剂，在最后一次对照 CRD 气球放气之后开始。

体外

分离的平滑肌制备物的收缩活性的记录可以用于研究在没有“外界”因素（循环在体内的激素等）的影响，但肌肉本身还保持着体内活性的条件下的某些肌肉功能。

用垂直设置在器官浴中的一端固定另一端与等长力传感器相连的平滑肌条（或整个肠段）进行研究。将肌肉在改进的 Krebs 重碳酸盐缓冲液中连续浸浴，保持 37°C，通入 95% 的 O₂ 和 5% 的 CO₂。对组织进行初始长度的平衡（Li-拉伸为零），进行大约 5 分钟，然后用较小的力量逐渐拉伸到合适的长度（Lo-对激动剂产生最大活性拉伸的长度）。在 Lo 进行实验，以获得标准的自发性活动和药理学反应。最常使用的记录方法包括与适当的记录设备相连的等长传感器。可以在加入了与生理学电刺激器相连的铂电极对的器官浴中对肠神经末梢的刺激机械反应进行研究。分离的平滑肌制备物可用于研究长度与拉伸之间的关系，其可以表征平滑肌的主动和被动性质。

临床评价

阶段 II 的试验设计

阶段 II 是一种剂量范围研究，是对成年（18 岁及以上）男人和女人进行的随机的，双盲的安慰剂对照平行组的多中研究。

该研究要进行两周，在进行了 4 或 12 周的活性治疗阶段后，进行 2 周的最小随访期以评价药物对于 IBS 患者的治疗。患者需满足 IBS 的 Rome II 型标准，具有至少 6 个月的症状。患者是流

动的门诊病人，有证据表明最近检查过大肠，并且没有证据表明具有其它严重的医疗状况包括炎性肠疾病。

需要研究的有三个阶段。有 2 周的监测期以确认肠习惯的症状和记录变化。所有合格患者的随机化应当在该 2 周的监测期以后进行。指定处理组的患者（或者是活性组成员之一或者是安慰剂组成员之一）并使它们连续接受研究药物，时间为 4 或 12 周。在这 4 或 12 周中，患者如监测阶段一样，记录腹部疼痛/不适和其它较低的 GI 症状。治疗阶段结束后，在 2 周的最小随访期中患者继续通过即时监测记录症状。

终点包括测量到腹部疼痛/不适的适当减轻，在治疗期间没有疼痛/不适的天数所占的比例的比较，排便稠度的变化，排便频率的变化和胃肠传输的变化。

实施例

本发明通过下述实施例进行举例说明，它们不以任何方式限制本发明。

实施例 1: 在对结肠扩张的内脏运动反应模型重评价 MCI-225

用 MCI-225 治疗 IBS

评价了 MCI-225 在肠易激综合症的啮齿动物模型中逆转乙酸诱导的结肠超敏性的能力。特别地，本文所述的实验研究了在未受胁迫的大鼠的末端结肠中乙酸诱导的结肠超敏性的大鼠模型中 MCI-225 对内脏运动反应的作用。

方法

动物

在动物房中在标准条件下饲养成年雄性 Fisher 鼠（每个笼子 2 只）。在动物房适应一周以后，将大鼠带至实验室，每天喂养，经一周时间使其适应环境，然后进行实验。

对结肠直肠扩张（CRD）的内脏运动反应

对结肠直肠扩张的内脏运动行为反应可在清醒的自由动物中通过用如 Gunter et al., *Physio. Behav.*, 69 (3): 379-82 (2000) 中所述的缝合在腹部肌肉组织上的应变仪记录对腹部收缩次数进行计数来测量。用一个通过肛管插入到结肠中的 5cm 塑胶气球导管进行结肠直肠扩张。以级进的方式进行连续压力增进的扩张（15, 30 或 60 mmHg），维持 10 分钟，记录腹部肌肉收缩的次数以测量结肠感觉的水平。每次扩张之间进行 10 分钟的恢复。

乙酸诱导的结肠超敏性

大鼠中乙酸诱导的结肠超敏性如 Langlois et al., *Eur J. Pharmacol.*, 318 : 141-144 (1996) and Plourde et al., *Am. J. Physiol.* 273: G191-G196 (1997) 所述。在以前的研究中，向结肠内给予低浓度的乙酸（1.5 ml, 0.6%）可致敏结肠，而不会引起结肠粘膜的组织损伤，如以前的研究结果所述（Gunter et al., *supra*）。

检测

在结肠直肠扩张开始之前 30 分钟将 MCI-225（30 mg/kg; n=6）或单独的载体（n=4）以腹腔内（i.p.）的方式给予大鼠。

注射体积为 0.2mL，使用 100%的丙二醇作为载体。以 10 分钟的间隔在 15, 30 或 60 mmHg 实施三次连续的结肠直肠扩张并记录。以 10 分钟的结肠直肠扩张过程中记录的腹部肌肉收缩的次数评价内脏运动的反应。未致敏的和致敏的未注射的对照动物分别用于证明较低的和较高的反应水平 (n=2/组)。

结果

乙酸确实致敏了大鼠对 CRD 的内脏运动反应 (图 1)。单独的载体对于乙酸致敏的动物中对 CRD 的反应没有作用 (图 2)。30 mg/kg 的 MCI-225 在 50%的动物中消除了对 CRD 的反应 (图 1; 应答者, n=3)。

结论

MCI-225 在大鼠模型中是有效的，这预示着它在治疗人的 IBS 中可能具有药效。特别地，如图 1 所示，MCI-225 在 50%的检测动物中显著减少了结肠直肠致敏诱导的对结肠直肠扩张的内脏运动反应的增加。因此 MCI-225 可作为 IBS 的合适的治疗方法。

实施例 2: 在对结肠直肠扩张的内脏运动反应模型中比较 MCI-225, 恩丹西酮和尼索西汀

还进行了其它研究，比较了在实施例 1 所述的对结肠直肠扩张的内脏运动行为反应动物模型中 MCI-225, 恩丹西酮和尼索西汀的效果。

方法

用成年雄性大鼠进行该研究。与实施例 1 类似，用乙酸的结肠内给药诱导急性结肠超敏性，并评价结肠直肠扩张诱导的反射性的腹部肌肉收缩的次数的增加。特别地，用异氟烷（2%）麻醉鼠，用应变仪测力传感器记录腹部肌肉收缩。将塑胶气球和导管插入结肠 11cm。动物经 30 分钟的时间完全从麻醉中恢复，然后进行结肠内乙酸（1.5mL，0.6%）给药。另外经 30 分钟致敏结肠。致敏结束的时候，使动物通过腹膜内注射接受单一剂量的 MCI-225 或一种参考药物或载体。药物给药后 30 分钟开始实施结肠直肠扩张。在气球插入但没扩张的时候读数腹部收缩次数的基准值，然后分别在 15，30，和 60mmHg 进行三次连续的持续 10 分钟的结肠直肠扩张，每次间隔 10 分钟。通过对每次扩张期间观察到的反射性腹部收缩（即内脏运动反应）进行计数来评价结肠直肠的敏感性。

随机将动物指定为三个检测组，如表 1 所示进行剂量依赖的对照实验。对照组的动物只用载体处理并实施相同的步骤。分别总结每种剂量的数据。

表 1

处理组	剂量 (i.p.)	患者数目
MCI-225	3 mg/kg	6
MCI-225	10 mg/kg	6
MCI-225	30 mg/kg	6
恩丹西酮	1 mg/kg	5
恩丹西酮	5 mg/kg	5
恩丹西酮	10 mg/kg	5
尼索西汀	3 mg/kg	6
尼索西汀	10 mg/kg	6
尼索西汀	30 mg/kg	6
载体(100%丙二醇)	200 L	11

材料

检测和对照药品

本研究的对照药物是恩丹西酮和尼索西汀。恩丹西酮由 APIN Chemicals LTD 提供。尼索西汀由 Tocris 提供。MCI-225 由 Mitsubishi Pharma Corp 提供。所有药物都通过超声处理 10 分钟溶解于 100% 的丙二醇 (1,2-丙二醇) 载体中。丙二醇购自 Sigma Chemical Co。

检测

动物

本研究中使用成年雄性 Fisher 鼠。将动物在标准条件（12 小时昼夜循环，自由获取食物和水）下每笼两只进行饲养。对动物房适应一周后，将动物带至实验室，再经一周后由研究人员进行实验。这样使得动物同时适应实验环境和进行实验的研究人员。本研究中所有使用的检测程序都是预先得到批准的。

乙酸诱导的结肠超敏性

在大鼠中乙酸诱导的结肠超敏性在 Langlois et al. and Plourde et al.中已有描述，前文中已引用。在本研究中，结肠内给予低浓度的乙酸（1.5mL，0.6%）以对结肠进行致敏，而不至引起结肠粘膜的组织性损伤，如实施例 1 中所述。

对结肠直肠扩张的内脏运动反应

通过用缝合到腹部肌肉组织上的应变仪记录的腹部收缩次数的计数测量对结肠直肠扩张的内脏运动行为反应，如 Gunter et al.中所述，前文已引用。用 5cm 的塑胶气球导管通过肛门管插入结肠实施结肠直肠扩张。以级进的方式进行持续的增压扩张，即，压力增加到所希望的水平，15，30，或 60mmHg，然后保持 10 分钟，期间记录腹部收缩的次数以测量结肠感觉的水平。每次扩张之后都有 10 分钟的恢复期。

结果和讨论

在自然大鼠中，在分级的内腔压力（0，15，30 和 60 mmHg）下实施 10 分钟的结肠直肠扩张，并在扩张之间有 10 分钟间隔，这引起压力依赖的内脏运动反应。乙酸诱导的结肠超敏性与未致敏对照相比，其具有腹部收缩次数随压力线性增加的特点。在本研究中，在结肠直肠致敏后将大鼠用检测或参考化合物进行处理，这样所得到的药物结果反应了一种相互作用，其机制改变了对于结肠刺激的超反应性，但对结肠直肠超敏性的发生没有预防作用。

参考化合物的作用

恩丹西酮，一种选择性 5-HT₃ 受体拮抗剂，当以 1，5，或 10 mg/kg 的剂量给药的时候，可诱导腹部收缩次数以剂量依赖的方式减少的结果。数据示于图 3，其与载体的作用相比，在所有扩张压力下都显示出对内脏运动反应的显著的剂量依赖型抑制。但是，即使是最高剂量 10 mg/kg 的恩丹西酮也不能消除对中等（30 mmHg）和高的（60 mmHg）内腔压力的反应，而只是将反应减小到与天然的未致敏大鼠相当的水平。在用恩丹西酮处理以后观察到大鼠的行为活动没有显著变化。

尼索西汀，可作为去甲肾上腺素再吸收抑制剂，当以 3，10 或 30 mg/kg 的剂量给药的时候，对结肠直肠扩张引起的内脏运动反应没有明显效果（图 4）。但是，30 mg/kg 的高剂量尼索西汀与实验过程中在笼中的增加的探索行为有关。

MCI-225 的效果

检测化合物 MCI-225 以 3, 10 或 30 mg/kg 的剂量给药的效果和载体给药的效果如图 5 所示。与载体相比, MCI-225 以 10 mg/kg 的剂量给药可引起在 15, 30 和 60 mmHg 的压力下的结肠直肠扩张造成的腹部收缩次数显著减少。但是, MCI-225 的效果没有显示出正常的剂量依赖关系, 因为 30 mg/kg 的高剂量 MCI-225 似乎效果更差。与参考化合物相比, 10 mg/kg MCI-225 诱导的内脏运动反应的最大抑制与 5 mg/kg 恩丹西酮引起的抑制相类似 (参见图 3)。

统计结果

用单因子 ANOVA 然后用 Tukey post-test 评价处理组的统计学显著性。载体处理和药物处理大鼠的反应之间的差异的显著性为 $p < 0.05$ 。(*) $p < 0.05$, (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ 。

结论

MCI-225 在大鼠模型中是有效的, 其中大鼠模型可以用于预测在人中治疗 IBS 的药效。特别地, 可以从图 5 中看出, MCI-225 显著减少了不同压力下结肠直肠扩张造成的腹部收缩的次数。

实施例 3: 在结肠传输增加的模型中 MCI-225 的效果

方法

此实施例中所使用的模型提供了一种确定 MCI-225 使缺水胁迫 (WAS) 诱导的加速结肠传输正常化的能力的方法。用恩丹西酮 (5-HT₃ 受体拮抗剂), 尼索西汀 (NARI) 和恩丹西酮和尼

索西汀的组合作为对照化合物。所述模型提供了一种评价一种化合物在特异的 IBS 患者群体中的效力的方法，其中在所述的 IBS 中胁迫诱导的结肠运动是起主要作用的因素。

先前的缺水胁迫模型的检测证明了在胁迫和结肠运动的改变之间存在关联。通过对 1 小时的 WAS 期间产生的粪粒总数进行计数以检测产生的粪粒的量。用 WAS 模型可比较 MCI-225 与恩丹西酮（5-HT₃ 拮抗剂）或尼索西汀（去甲肾上腺素再吸收抑制剂-NARI）的影响粪粒产生的作用。结果表明 MCI-225 能够抑制胁迫诱导的加速的结肠传输，因此在 IBS，特别是其中胁迫诱导的结肠运动是主要影响因素的 IBS 的治疗中是有效的。

检测

动物

成年雄性 F-344 大鼠，由 Charles River Laboratories 提供，体重 270-350 g，用于完成这项研究。将该鼠在标准条件下每笼两只饲养，对动物房适应一到两周后，将鼠带至实验室，每天饲养，持续一周，以使它们适应实验室条件和进行研究的研究人员。本研究中所使用的所有方法都符合实施标准。

实验之前的适应化

在进行 WAS 之前所有鼠都进行连续 2-4 天的假胁迫（在没有水的胁迫室中 1 个小时）（进行假胁迫直到鼠连续 2 天每个小时产生 0-1 粒粪便）。在 1 小时胁迫期结束的时候，对粪粒计数并记录。

方法

WAS 引起结肠传输的加速,这可以通过对胁迫过程中产生的粪粒数目计数来定量测定。将鼠置于充满了深度为 8cm 的室温的水的胁迫室中央的一个 7.5 cm x 7.5 cm x 9 cm (L x W x H) 的高台上 1 小时。胁迫室是用矩形塑料桶 (40.2 x 60.2 x 31.2 cm) 制作的。治疗组和对照组的数据如表 2 所示。

表 2

处理组	剂量 (i.p.)	患者数量
MCI-225	3 mg/kg	8
MCI-225	10 mg/kg	8
MCI-225	30 mg/kg	8
恩丹西酮	1 mg/kg	8
恩丹西酮	5 mg/kg	8
恩丹西酮	10 mg/kg	8
尼索西汀	3 mg/kg	8
尼索西汀	10 mg/kg	8
尼索西汀	30 mg/kg	8
对照组笼养	n/a	8
对照组笼养	n/a	8
对照组 WAS	n/a	8
对照组载体 (100%丙二醇)	200 L	8

材料

检测和对照药品

本研究的对照药物是恩丹西酮和尼索西汀。恩丹西酮由 APIN Chemicals LTD 提供。尼索西汀由 Tocris 提供。MCI-225 由 Mitsubishi Pharma Corp 提供。所有药物都通过超声处理 10 分钟溶解于 100% 的丙二醇（1,2-丙二醇）载体中。丙二醇购自 Sigma Chemical Co。MCI-225 和尼索西汀的检测剂量为 3, 10 和 30 mg/kg, 恩丹西酮的检测剂量为 1, 5 和 10 mg/kg。所有药物和载体都以 i.p. 注射 0.2mL 的方式给药。

结果和讨论

对照

如图 6 所示, 在笼养动物和假胁迫对照组在 1 小时中产生的粪粒数目之间没有显著性差异。正如所料的, 在暴露于 WAS (基础的 WAS) 1 小时后, 所产生的粪粒与笼养鼠或假胁迫对照组产生的粪粒相比有非常显著的 ($p < 0.001$) 增加。对胁迫室适应 2-4 天后, WAS 载体处理组产生的粪粒与未处理的 WAS 组产生的粪粒之间没有统计学上的差异。

处理组-MCI-225

在用 MCI-225 (剂量为 3, 10 或 30 mg/kg i. p.) 预处理然后置于 WAS 中的鼠中, 1 小时期间产生的粪粒数量显著少于载体处理组中在 WAS 期间产生的数量。如图 7 所示, MCI-225 的所有剂量都引起对 WAS 诱导的粪粒产生的显著的剂量依赖型抑制。

尼索西汀

如图 8 所示，尼索西汀的所有剂量（3，10 和 30 mg/kg i.p.）都减少了 1 小时的 WAS 期间产生的粪粒数目。但是，当与载体处理组相比较的时候，剂量为 10 和 30 mg/kg 的尼索西汀处理组在 WAS 期间产生的粪粒数量都显著地较少。

恩丹西酮

恩丹西酮引起对胁迫诱导的粪粒产生的剂量依赖型抑制。如图 9 所示，在所有恩丹西酮处理组（1，5 和 10 mg/kg i.p.）中 1 小时的 WAS 期间产生的粪粒数目都显著少于载体处理组在 WAS 期间产生的数目。

尼索西汀和恩丹西酮的组合

对于组合处理组，使用单独使用每种时达到最大功效的尼索西汀和恩丹西酮的剂量。当尼索西汀（30 mg/kg）与恩丹西酮（10 mg/kg）组合的时候，1 小时的 WAS 期间产生的粪粒数目显著少于载体处理组在 WAS 期间产生的数目（ $p < 0.01$ ）。结果如图 10 所示。

统计学分析

用单因子 ANOVA 然后用 Tukey post-test 评价处理组的统计学显著性。如果 $p < 0.05$ ，则 WAS 组和假胁迫组之间的统计学差异被视为是显著性的。（*） $p < 0.05$ ，（**） $p < 0.01$ ，（***） $p < 0.001$ 。

结论

这些实验证明胁迫，在本案例中是缺水胁迫，可引起结肠传输的显著增加，这可由粪粒产生的增加证明。全部的结论是 MCI-225 显著抑制胁迫诱导的粪粒产生的增加，其程度与尼索西汀或恩丹西酮类似。因此，MCI-225 可用作治疗非便秘的 IBS 的合适的治疗方法。

实施例 4: MCI-225 对于小肠传输的效果

用下述的小肠传输啮齿动物模型评价了 MCI-225 抑制小肠传输的效果并将其与恩丹西酮，尼索西汀以及恩丹西酮和尼索西汀的组合的效果进行了比较。

方法

特别地，在控制条件下在大鼠中研究了 MCI-225，参考化合物（恩丹西酮和尼索西汀）对小肠传输的效果。禁食过夜后，将大鼠连笼带至实验室，i.p.注射下述其中一种药物：MCI-225，100%丙二醇（载体），恩丹西酮，尼索西汀和恩丹西酮和尼索西汀的组合。对照大鼠不接受任何处理。将处理过的大鼠放回笼中，30 分钟后，通过口腔管饲法喂入 2mL 炭餐。经过 15 分钟的检测期后测量小肠传输。将每只大鼠放入玻璃室中，用异氟烷麻醉并处死。摘除胃和小肠，测量小肠的总长度。然后通过测量炭餐沿着小肠经过的距离检测传输，并表示为总长度的%。随机指定实验组的动物，如表 3 所示进行实验。

表 3

处理组	剂量(i.p.)	患者数目	平均值	标准差	相对于平均值的标准误差 (SEM)
MCI-225	3 mg/kg	6	30.1%	20.3%	8.3%
MCI-225	10 mg/kg	5	4.2%	5.8%	2.6%
MCI-225	30 mg/kg	4	8.8%	7.1%	3.5%
恩丹西酮	1 mg/kg	5	27.6%	16.0%	7.2%
恩丹西酮	5 mg/kg	5	32.1%	15.6%	7.0%
恩丹西酮	10 mg/kg	5	18.4%	11.8%	5.3%
尼索西汀	3 mg/kg	6	40.3%	12.2%	5.0%
尼索西汀	10 mg/kg	5	38.6%	26.7%	11.9%
尼索西汀	30 mg/kg	5	4.7%	1.05%	4.7%
尼索西汀和恩丹西酮	10 mg/kg 5 mg/kg	5	14.2%	11.8%	5.3%
对照组载体 (100%丙二醇)	200 L	5	56.0%	8.0%	3.6%
天然鼠(未处理的)	n/a	5	74.6%	12.4%	5.6%

材料

检测和对照药品

恩丹西酮由 APIN Chemicals LTD 提供。尼索西汀由 Tocris 提供。MCI-225 由 Mitsubishi Pharma Corp 提供。所有药物都通

过超声处理 10 分钟溶解于 100%的丙二醇 (1,2-丙二醇) 载体中。丙二醇购自 Sigma Chemical Co。恩丹西酮, 一种 5-HT₃ 受体拮抗剂, i.p. 剂量为 1, 5 和 10 mg/kg。尼索西汀的 i.p. 给药剂量为 3, 10 和 30 mg/kg。所有剂量递送的终体积为 200 μ L。载体对照组的动物接受 200 μ L 的 100%丙二醇, 正常对照组的动物不进行处理。

检测

动物

本研究使用成年雄性 F-344 大鼠 (230-330g)。所述大鼠在标准条件下每笼 2 只进行饲养。所述动物以标准啮齿动物饮食喂养, 食物和水“无限制”提供。在进行传输实验之前使大鼠对动物房适应一周。本研究终使用的所有方法都是预先得到批准的。

用规定时间 (15 分钟) 期间炭餐沿着小肠的传送研究大鼠的小肠传输。实验前对所述动物禁食 12-16 小时。以口服管饲法给大鼠喂入 2mL 的炭餐 (炭, 阿拉伯胶, 和蒸馏水), 经过 15 分钟的检测期后处死。定量测定炭餐经过的距离占小肠长度的百分数, 使用下述等式:

$$\text{传输 (\%)} = \text{炭餐经过的 cm} / \text{小肠总长度 cm} \times 100$$

数据和统计分析

在下述接受不同药物处理的组中, 小肠传输表示成小肠总长度的相对单位 (%): 天然的 (未处理的), 载体 (丙二醇, 200 μ L i.p.), MCI-225 (3, 10 和 30 mg/kg, i.p.), 尼索西汀 (3, 10 和 30 mg/kg, i.p.), 恩丹西酮 (1, 5 和 10 mg/kg, i.p.) 和尼索西汀

(10 mg/kg, i.p.) 和恩丹西酮 (5 mg/kg, i.p.) 的组合。共进行了 61 个实验 (每组 4-6 只大鼠)。

进行统计学分析确定平均值, 平均值的标准误差以及每组的标准差 (参见表 3)。图 11-15 即基于这些数据。用不成对的 t 检验确定处理组的不同剂量组之间的差异, 并比较药物处理组和载体处理组, 当使用 % 作为相对单位的时候, t 统计也是相应的。在所有情况下, $p < 0.05$ 则视为统计学显著的。统计学显著表示为 $p < 0.05$ 。在图 11-15 中 (*) $p < 0.05$, (**) $p < 0.01$, (***) $p < 0.001$ 。

结果和讨论

在自然的未处理的大鼠中, 炭餐在 15 分钟的检测期中达到了总长度的 $75 \pm 12\%$ 。比较来说, 当大鼠在接受炭餐前 30 分钟 i.p. 注射了载体的时候, 在相同条件下检测到的小肠传输减少到小肠总长度的 $56 \pm 8\%$ 。本研究的数据如图 11 所示。但是载体处理的动物的小肠传输值是始终如一的并且是可重复的, 因而可以作为对照以评价药物处理的效果。

MCI-225 的效果

进行了一系列的实验以研究 3, 10 或 30 mg/kg 的递增剂量的 MCI-225 对于小肠传输的效果。这项研究的数据如图 12 所示。与载体相比, MCI-225 诱导对小肠传输的剂量依赖型的抑制, 当剂量为 10 mg/kg 的时候, 炭餐经过的距离减少的最多, 减少到小肠总长度的 $4.2 \pm 2.6\%$ 。

参考化合物的效果

在分离的研究中，动物用 1, 10 或 30 mg/kg 的递增剂量的尼索西汀处理，它可以阻断去甲肾上腺素的再吸收。当给予 3 或 10 mg/kg 的剂量时，尼索西汀显示出减少小肠传输的趋势，而当剂量为 30 mg/kg 时几乎完全抑制传输（图 13）。对给药剂量为 1, 5 或 10 mg/kg 恩丹西酮的效果也进行了研究。如图 14 所示，恩丹西酮引起小肠传输的显著减少，但没有表现出正常的剂量依赖关系。

尼索西汀引起的抑制被视为是胃排空延迟的结果，这是由于当使用剂量为 30 mg/kg 的尼索西汀的时候，5 个动物中有 4 个的炭餐完全保留在胃中。这种效果与恩丹西酮或 MCI-225 的效果不同，其中一部分炭餐已经从胃进入到了小肠中。当同时注射 5 mg/kg 的恩丹西酮和 10 mg/kg 的尼索西汀的时候，这些药物使炭餐经过的距离减少了小肠总长度的 14%（图 15）（即组合的最大效果比单独的 5 mg/kg 恩丹西酮或 10 mg/kg 尼索西汀的效果要强（降低的%值））。这些发现表明 MCI-225 诱导的小肠传输的减少是由 5-HT₃ 受体和去甲肾上腺素再吸收机制的组合导致的。

虽然本发明进行了具体说明并参考优选实施方案进行了描述，所属领域技术人员应当理解可以在形式上和细节上进行各种变化而不背离由权利要求所限定的本发明的范围。

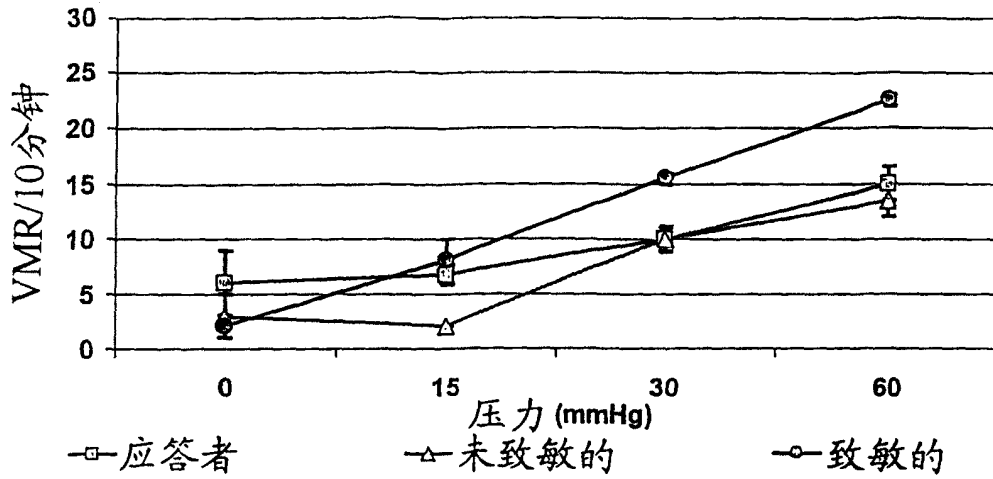


图 1

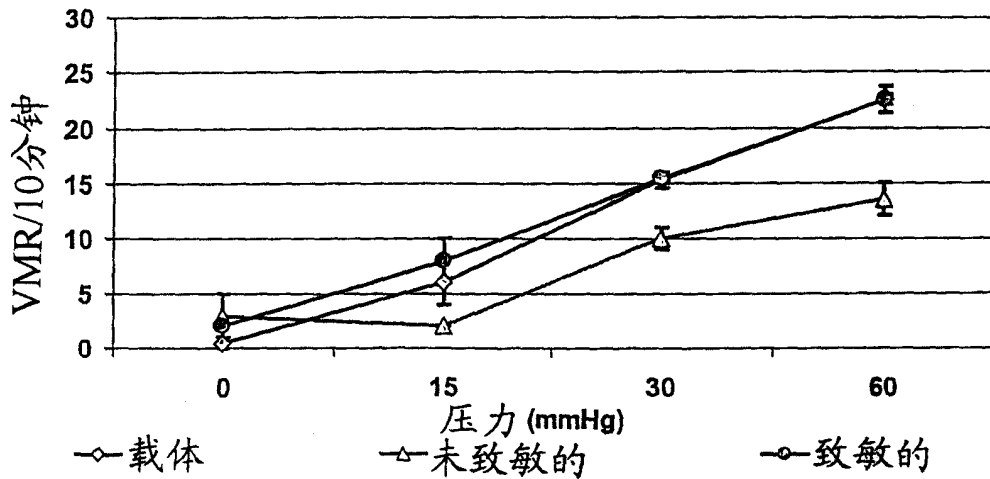


图 2

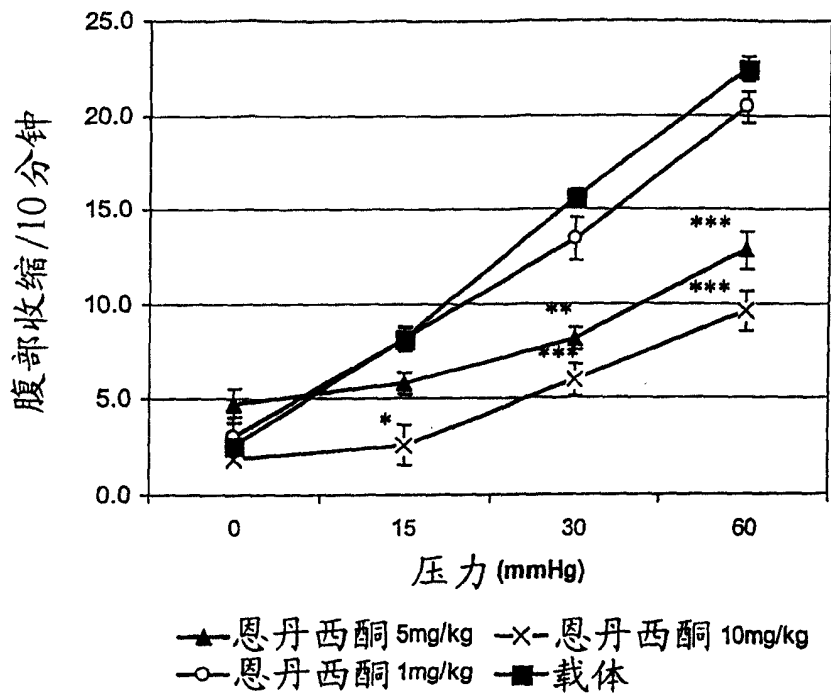


图 3

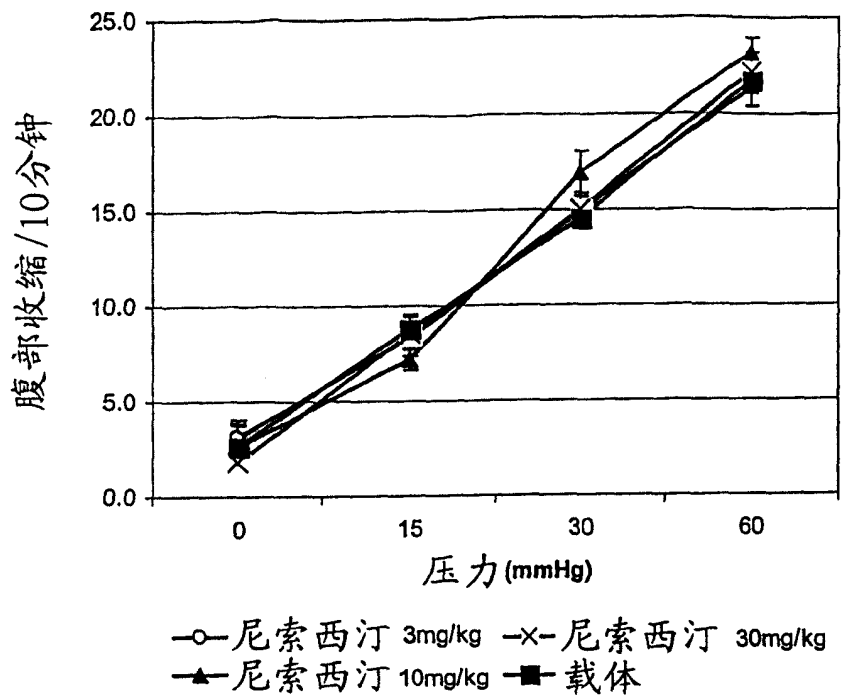


图 4

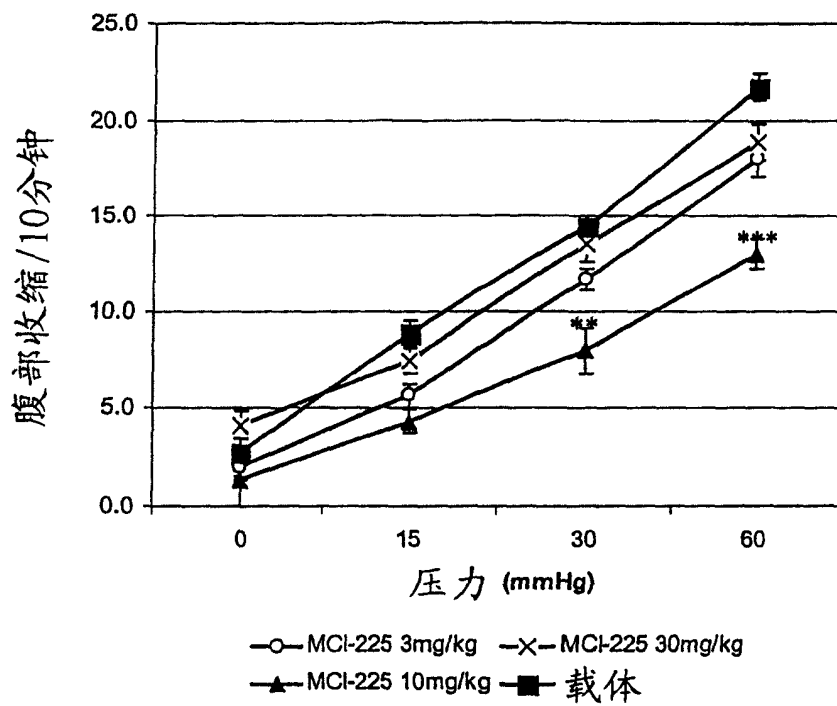


图 5

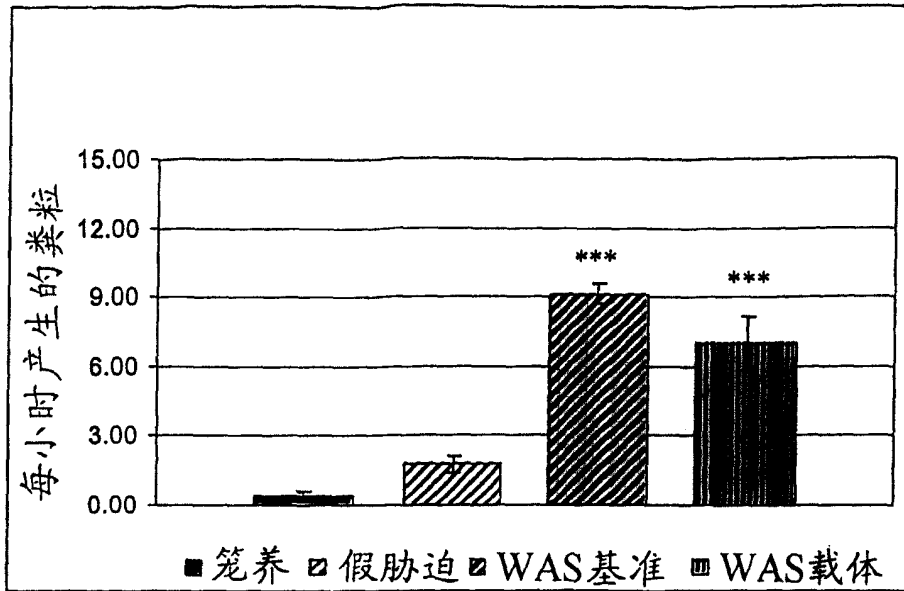


图 6

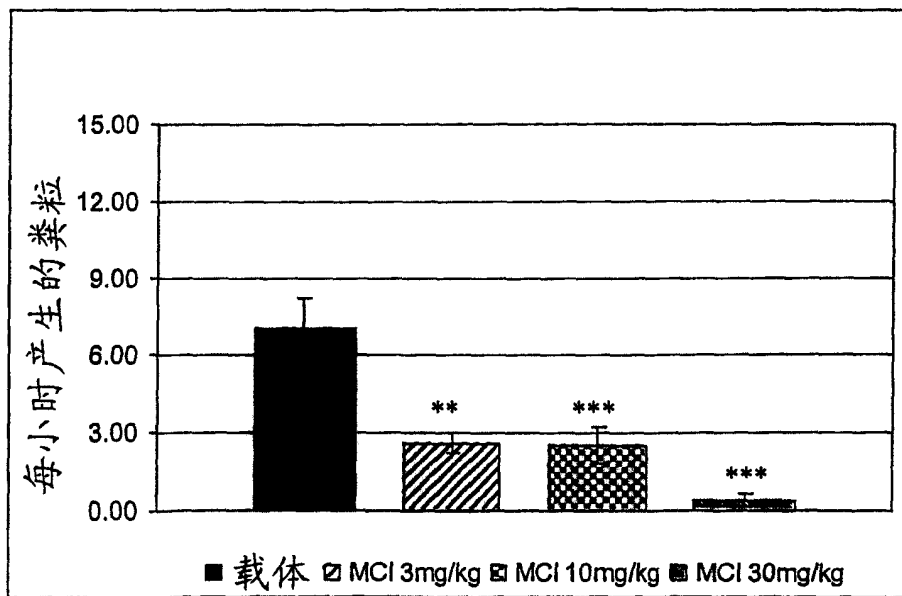


图 7

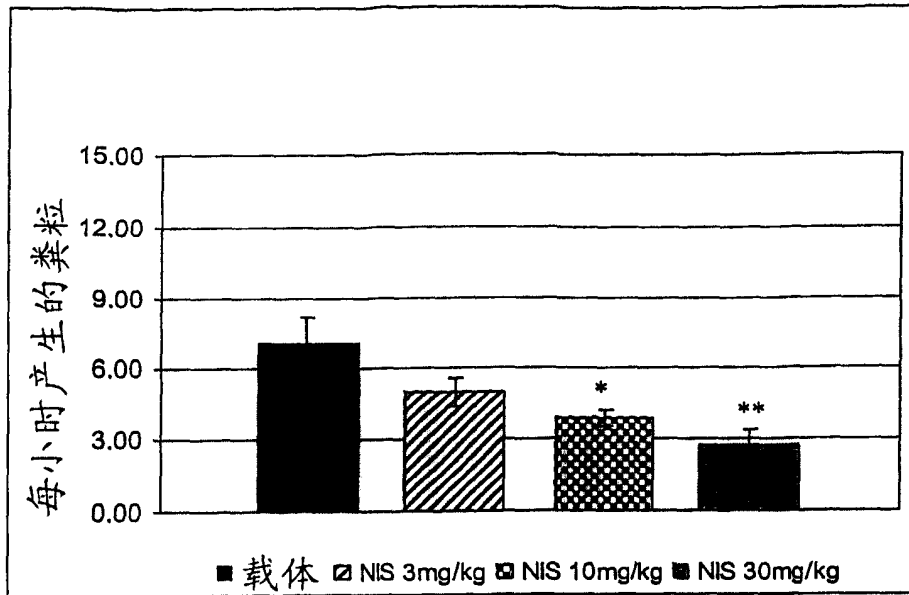


图 8

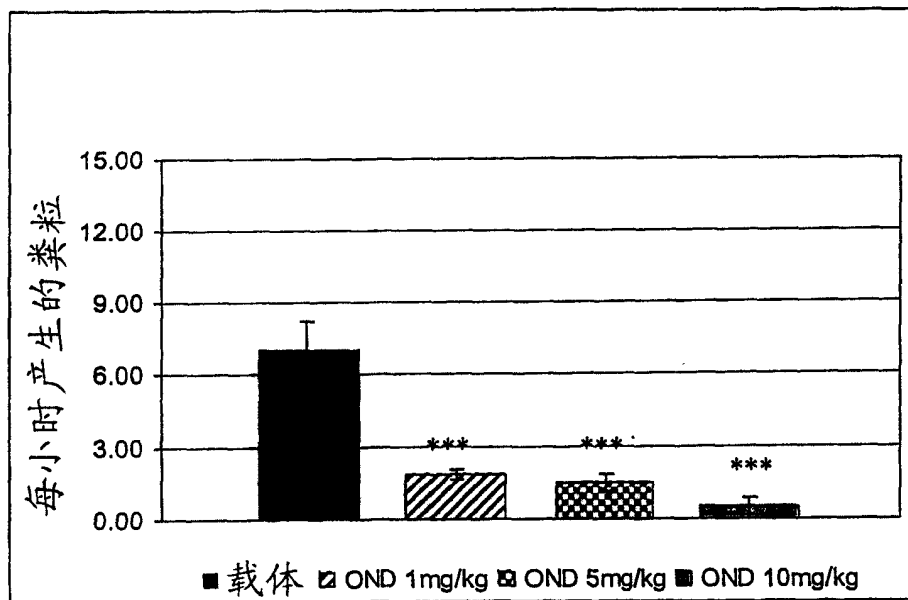


图 9

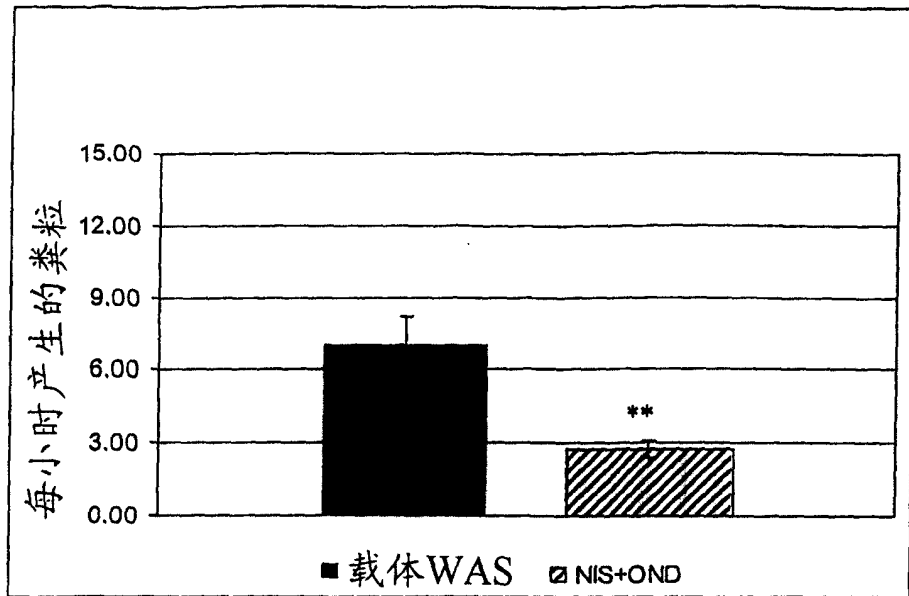


图 10

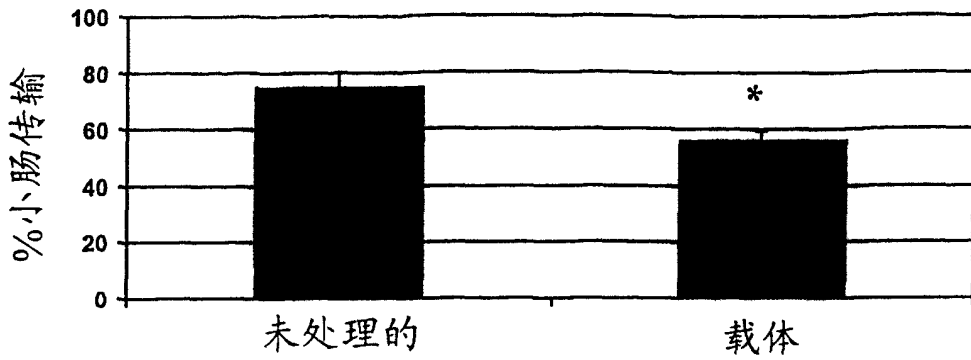


图 11

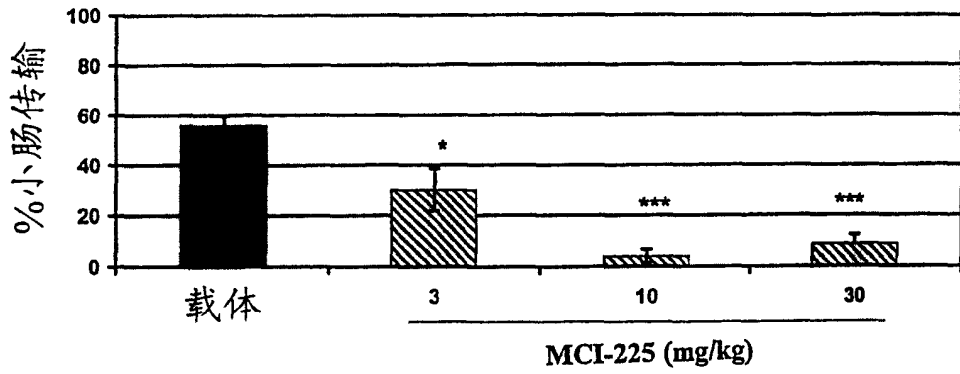


图 12

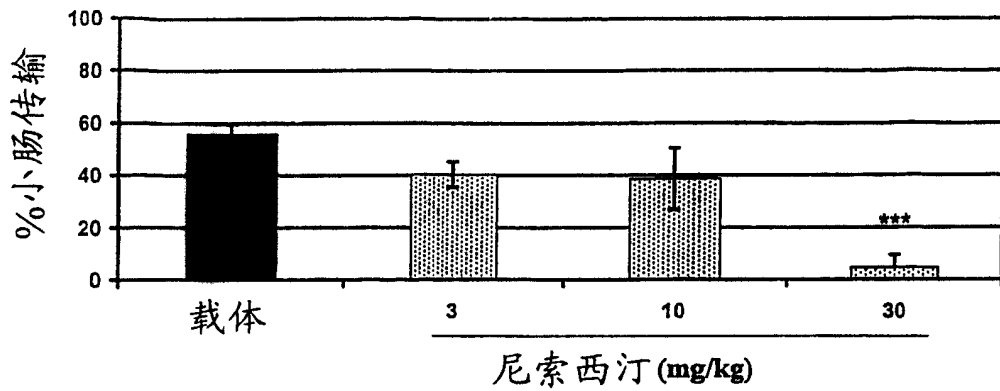


图 13

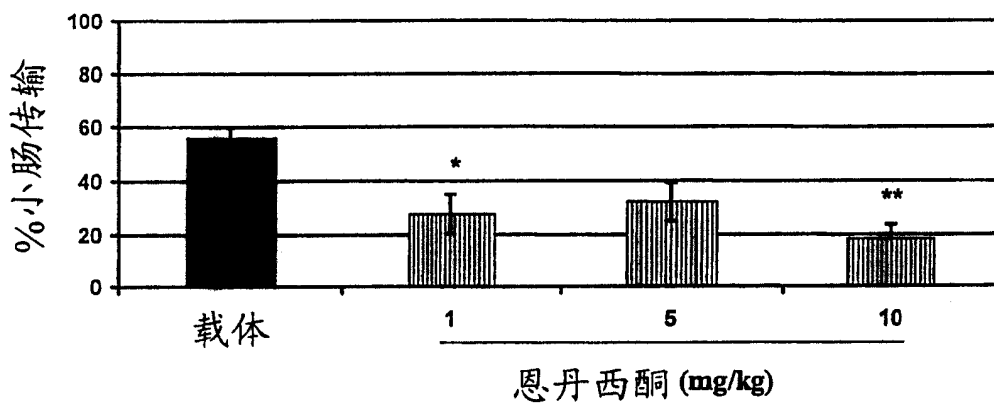


图 14

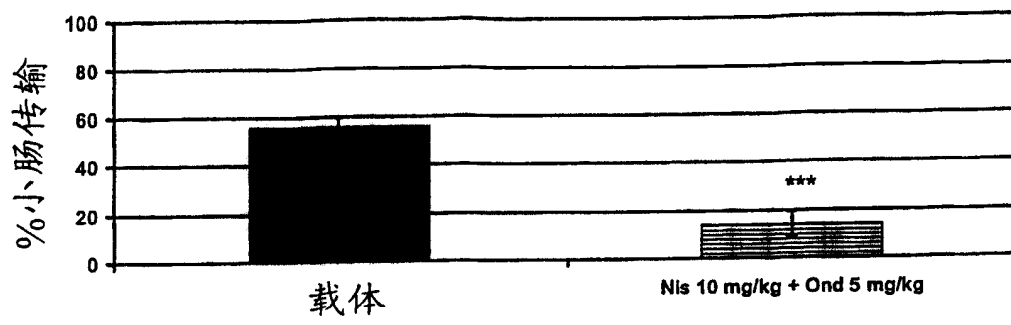


图 15